



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O MICROBIOMA INTESTINAL E AS SUAS IMPLICAÇÕES NA OBESIDADE

Trabalho submetido por
Ana Raquel Silva Martins
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

outubro de 2015



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

O MICROBIOMA INTESTINAL E AS SUAS IMPLICAÇÕES NA OBESIDADE

Trabalho submetido por
Ana Raquel Silva Martins
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Professora Doutora Madalena Salema Oom

outubro de 2015

Índice

Índice de Figuras	4
Abreviaturas	5
Resumo	7
Abstract	8
Introdução	9
1. Microbioma intestinal	13
1.1. O que é?.....	13
2. Tipos de microbioma (enterotipos)	15
3. Fatores que influenciam o microbioma intestinal	19
4. Evolução do microbioma ao longo da vida	23
4.1. Infância.....	23
4.2. Vida adulta	25
4.3. Idosos.....	25
5. A interação do microbioma intestinal com a dieta	27
5.1. Hidratos de carbono.....	29
5.2. Proteínas	32
5.3. Lípidos.....	33
5.4. Compostos fenólicos	34
5.5. Probióticos.....	34
5.6. Prebióticos	36
6. Obesidade	37
6.1. O microbioma intestinal e a obesidade.....	37
6.2. Diferenças de composição entre microbioma magro e microbioma obeso.....	39
6.3. A relação entre a obesidade e a dieta	40
6.4. Atuais terapias	43
6.5. Novas terapias: transplante fecal	45
Conclusão	47
Bibliografia.....	49

Índice de Figuras

Figura 1: Fatores que influenciam o microbioma intestinal com especial destaque na dieta alimentar (adaptado de Graf et al, 2015).....	19
Figura 2: Digestão dos hidratos de carbono, lípidos e proteínas.....	27

Abreviaturas

CDI – Infecção por *Clostridium difficile*

FMT - Transplante microbiano fecal

HDL - lipoproteína de alta densidade

IL-1 β - Interleucina beta

LPS – Lipopolissacárido

NAS - Adoçantes artificiais não calóricos

SCFA - Ácidos gordos de cadeia curta

TNF- α – Tumor Necrosis Factor – Fator de necrose tumoral

Resumo

O organismo humano é colonizado por uma enorme variedade de microrganismos que constituem o microbioma humano. Estes microrganismos colonizam várias partes do corpo humano, entre elas o intestino. O objetivo deste trabalho é rever o conhecimento atual sobre o microbioma intestinal, a sua importância e o seu papel na saúde. Assim, destaca-se o estudo e a evolução do microbioma intestinal ao longo da vida, incluindo o que o influencia e altera.

São vários os fatores que afetam o microbioma intestinal. Este trabalho foca-se principalmente na relação entre o microbioma intestinal e a dieta alimentar, e nas suas implicações na obesidade. É evidente o contributo do microbioma nesta doença metabólica, que afeta cada vez mais pessoas, e são feitas referências às novas terapêuticas encontradas, na procura de solução para este problema. Entre as opções terapêuticas, reconhecem-se as farmacológicas, hormonais e cirúrgicas. As cirurgias bariátricas, muito usadas como tratamento na obesidade mórbida, também estão relacionadas com alterações no microbioma intestinal. A perda de peso, relacionada com a cirurgia, tem efeitos a nível do intestino no sentido de o reequilibrar. Destaca-se ainda a utilização do transplante fecal como técnica inovadora. Apesar de ainda não haver estudos em humanos sobre a sua eficácia no tratamento da obesidade, pensa-se que esta técnica possa vir a ser uma opção terapêutica.

Há ainda um longo caminho a percorrer nesta área. Espera-se que, num futuro próximo, surjam avanços no tratamento da obesidade, a partir do conhecimento do microbioma intestinal.

Para a realização deste trabalho, foi realizada uma revisão da literatura, usando como base de dados o Pubmed e o Scholar Google.

Palavras-chave: microbioma intestinal, dieta, obesidade, transplante fecal

Abstract

The human body is colonized by a wide variety of microorganisms, which constitute the human microbiome. These microorganisms colonize various parts of the human body, including the intestine. The objective of this study is to present the intestinal microbiome, its importance and its role in health. Thus, the development of the intestinal microbiome throughout life, including the influences and changes is highlighted. This work mainly focuses on the relationship between the intestinal microbiome and diet, and its implications in obesity.

There are several factors that affect the intestinal microbiome, in particular the diet. Mainly describes the contribution of the diet in obesity, a metabolic disease that affects increasingly more people, and refers to new therapeutics found during the research of a solution to this problem. Among the therapeutic options, are pharmacological, hormonal and surgical approaches. The gastric bypass, is widely used as a treatment in morbid obesity and its also related to the changes in the intestinal microbiome. The weight loss associated with surgery has effects towards the rebalancing of the intestine. The use of faecal transplantation as an innovative technique is also highlighted. Although there are no studies in humans relative to the efficacy in treating obesity, it is believed that this technique might be a therapeutic option.

There is still a long way to go in this area. In the near future, it is expected new advances in the treatment of obesity, from the knowledge of the intestinal microbiome.

For the realization of this work, a review of the literature was carried out, using as database Pubmed and Google Scholar.

Key-words: gut microbiome, diet, obesity, fecal transplant

Introdução

O microbioma humano assume atualmente uma grande importância pelo reconhecimento do seu impacto na fisiologia, nomeadamente no sistema imunitário, absorção de nutrientes e metabolismo. Conhecer o microbioma humano e a forma de modular pode contribuir para promover hábitos saudáveis e mesmo prevenir e combater doenças.

Hoje, temos novos conhecimentos e, se é verdade que não se pode mudar o genoma, é certo que cada um de nós pode mudar o microbioma durante a sua vida, e para melhor (Knight, 2015).

Também tem havido a generalização do uso do termo microbioma. O microbioma remete para o conjunto de genomas das bactérias, sendo microbiota o termo usado para o conjunto de bactérias que habitam o organismo humano. Visto que, na sua grande maioria, são incultiváveis por serem anaeróbias, não se analisa a bactéria, mas sim o seu genoma através de uma amostra fecal. Daí se usar muitas vezes o termo microbioma indiscriminadamente ou indiferenciadamente.

Foi em 2008 que se iniciou o Projeto do Microbioma Humano (Human Microbiome Project - HMP), cujo principal objetivo é catalogar e compreender os microrganismos que habitam o organismo humano. Fez-se a caracterização do microbioma em humanos considerados saudáveis (isto é, com ausência de evidência de doença), de modo a que se conseguisse chegar a uma perspetiva inicial do que seria a sua composição. Foram recolhidas amostras de vários locais do corpo humano, sendo possível identificar vários habitats do microbioma humano, entre eles a cavidade oral, nasal, da pele, intestinal e urogenital.

Os objetivos específicos deste projeto são:

- 1) Tirar proveito das novas tecnologias para caracterizar o microbioma humano mais profundamente, estudando amostras de vários locais do corpo de pelo menos 250 voluntários saudáveis ; 2) determinar se existem associações entre as mudanças no microbioma e saúde/doença, estudando várias condições médicas diferentes; 3) fornecer uma base de dados padronizada e novas abordagens tecnológicas para permitir que estes estudos possam ser usados pela comunidade científica (The NIH HMP Working Group, 2009).

Além dos objetivos já referidos, é tido em conta as implicações sociais, legais e éticas do projeto. O objetivo final do projeto é “demonstrar que podem existir oportunidades para melhorar a saúde humana através da monitorização ou manipulação do microbioma humano (The NIH HMP Working Group, 2009).” Deste modo, é já possível saber quais os tipos de microrganismos que são predominantes numa flora normal para que, posteriormente, essa informação possa ser usada para comparar, por exemplo, a flora intestinal de indivíduos saudáveis/magros com indivíduos obesos (Turnbaugh et al., 2009). Em 2012, ficou concluída a primeira fase deste projeto, pelo que é a partir desse ano que se dá o maior avanço na investigação a nível da microbiológica e genética (Huttenhower et al., 2012; Velasquez-Manoff, 2015).

Diversos estudos demonstraram que existe uma diferença na composição do microbioma intestinal entre indivíduos saudáveis e obesos.

Verificou-se que, nos últimos anos, houve um grande aumento da prevalência da obesidade que afeta hoje milhões de pessoas, a nível mundial. Na projeção de Kelly et al, estima-se que os casos de obesidade aumentem de 400 milhões de obesos em 2005, para 700 milhões em 2015 e que continuem a aumentar até 2030 (Kelly, Yang, Chen, Reynolds, & He, 2008). A obesidade está diretamente relacionada com a ingestão de alimentos hipercalóricos e ao estilo de vida sedentária que a sociedade atual adotou. Também está associada às diferentes composições do microbioma intestinal (Hartstra, Bouter, Bäckhed, & Nieuwdorp, 2015).

O desenvolvimento da obesidade deve-se ao desequilíbrio de três fatores: gasto de energia, ingestão calórica e armazenamento de energia (Tsukumo et al., 2014). O microbioma de um indivíduo obeso aparenta ser mais eficiente a extrair energia da dieta alimentar, que é posteriormente armazenada como gordura (Hartstra et al., 2015; Suez et al., 2014).

Depois de estabelecida uma relação causal entre o microbioma intestinal e a obesidade, considerada uma doença metabólica, caminha-se para novas terapêuticas da obesidade e, consequentemente, para a diabetes mellitus tipo 2 (Hartstra et al., 2015; Tsukumo et al., 2014).

Este trabalho tem como objetivo fundamental rever o estudo do microbioma intestinal, dar a conhecer a sua evolução ao longo da vida do ser humano, os tipos de microbioma existentes e os fatores que o influenciam. Procura debruçar-se, ainda, sobre as dietas alimentares e como estas interferem na composição do microbioma e são determinantes para a saúde de um indivíduo. Foca-se sobre os problemas resultantes de

doenças metabólicas e crónicas a ele associadas, destacando-se a obesidade e a diabetes mellitus tipo 2.

Nesta monografia, é prioridade rever o papel do microbioma intestinal no desenvolvimento da obesidade; encontrar uma relação entre o microbioma e o desenvolvimento da obesidade e descrever novas terapias com base em terapias microbianas.

Foi realizada uma revisão da literatura, usando como base de dados o Pubmed e o Scholar Google. Num total de 101 artigos científicos e 3 livros.

1. Microbioma intestinal

1.1. O que é?

Quando se fala do organismo humano não se pode deixar de referir que este está colonizado por uma enorme variedade de microrganismos. Esta variedade é agora denominada microbioma humano e inclui as bactérias, vírus, fungos e protozoários que coabitam no nosso organismo. Esta pode ser definida como o número e abundância de distribuição de tipos distintos de microrganismos (Huttenhower et al., 2012).

Os microrganismos, quando em associação com os seres vivos, facilitam as funções biológicas, colocando as suas atividades metabólicas ao serviço do organismo hospedeiro. Deste modo, temos o genoma humano (conjunto de informação genética das células humanas) e o microbioma (Tsukumo et al., 2014).

Apesar de existirem vários locais de colonização no corpo humano (cavidade oral, nasal, da pele, intestinal e urogenital), nesta monografia é dado especial destaque ao intestinal.

O intestino humano é colonizado por milhões de bactérias, predominantemente anaeróbicas, compreendendo aproximadamente 1000 espécies (Bäckhed et al., 2004). O microbioma tem cem vezes mais genes que o genoma humano (Tsukumo et al., 2014).

Tendo em conta que o microbioma intestinal tem diversas funções a nível da manutenção do nosso organismo, este foi por Mueller et al considerado um órgão microbiano (Mueller & Macpherson, 2006).

Atribuem-se às bactérias a colaboração na digestão, armazenamento de energia, síntese de vitaminas e formação de uma barreira protetora do intestino. Deste modo, estão envolvidas no desenvolvimento do sistema imunitário (Mueller & Macpherson, 2006). De todas as bactérias, cerca de 90% são do filo Bacteroidetes e Firmicutes. Os géneros bacterianos predominantes são: *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Fusobacterium* e *Peptostreptococcus* (Mueller & Macpherson, 2006). As bactérias comensais do nosso organismo podem, em indivíduos imunodeprimidos ou debilitados, tornar-se patogénicas embora em pequena percentagem (Mueller & Macpherson, 2006; Tsukumo et al., 2014).

O microbioma intestinal tem sido considerado um importante determinante da saúde. Cada vez mais associado à presença de doenças, como, por exemplo, a obesidade

e o síndrome do cólon irritável, estão intimamente ligadas à alteração da diversidade microbiana (Huttenhower et al., 2012).

A descoberta do importante papel do microbioma intestinal levou a que se tentasse compreender os microrganismos, os fatores ambientais e até a relação com o próprio hospedeiro (Voreades, Kozil, & Weir, 2014) .

Chegou-se à conclusão de que não é um microrganismo que dá origem a uma doença, mas sim uma disbiose intestinal. Uma disbiose é o desequilíbrio do microbioma intestinal, podendo envolver diferentes vários microrganismos. Por exemplo, a obesidade, doenças autoimunes, alergias e diabetes são alguns tipos de doenças que já foram implicadas com a disbiose do intestino (Clemente, Ursell, Parfrey, & Knight, 2012).

2. Tipos de microbioma (enterotipos)

O ser humano pode distinguir-se pelo tipo de sangue, impressões digitais e DNA, mas também pelas comunidades microbianas presentes nas fezes, isto é, o nosso enterotipo, o nosso tipo de intestino (Siezen & Kleerebezem, 2011).

Os métodos usados para a análise da composição de comunidades microbianas têm evoluído muito na última década, graças ao desenvolvimento de tecnologias de sequenciação de DNA e da utilização da bioinformática (Graf et al., 2015).

A análise metagenómica consiste na análise de genomas, isto é, na análise do DNA de uma comunidade de microrganismos. Esta tem a vantagem de não necessitar de isolamento através de cultura, pelo que vai permitir uma análise de todos os genomas presentes, por exemplo, numa amostra fecal (Tringe & Hugenholtz, 2008).

Atualmente, há muitas bases de dados com sequências de genes 16S rRNA, principalmente devido a ser um método simples, mas eficaz. Este tipo de genes é usado para classificar e identificar bactérias visto que está universalmente presente em todas as bactérias e archaea (ubiquitário), contém sequências conservadas e os primers usados têm uma especificidade bastante ampla (Tringe & Hugenholtz, 2008). Além de todos estes fatores, estes genes têm ainda a vantagem de não terem evoluído muito ao longo do tempo e as mudanças que se observam estão relacionadas com a evolução. Permitem ainda que haja uma amplificação de sequências filogenéticas através da técnica de PCR (polymerase chain reaction) a partir de qualquer tipo de amostras (Tringe & Hugenholtz, 2008).

A análise dos genes 16S rRNA tem-se tornado mais eficiente devido à capacidade da metagenómica. Estes genes são considerados uma base para outros métodos de identificação, permitindo definir qual a técnica a usar e a quantidade de sequenciação necessária (Tringe & Hugenholtz, 2008). Estas técnicas permitem detetar grupos menos abundantes e, em alguns casos, quantificar em absoluto os números de células bacterianas. São exemplos o PCR quantitativo, FISH (fluorescente in situ hybridization) e microarrays (Graf et al., 2015).

Recentemente, metagenómica permitiu que se analisasse todo o DNA presente numa amostra, possibilitando o acesso a toda a informação de todos os genes e sequências não codificantes, e não apenas a contida em genes 16S rRNA. Esta informação metagenómica tem sido usada para descrever a diversidade das comunidades bacterianas presentes em diversos tipos de amostras, incluindo amostras

fecais. Deste modo, foi possível determinar o genoma de várias espécies cultiváveis e obter informação sobre as sequências genómicas de espécies até agora incultiváveis (Graf et al., 2015).

Após a análise metagenómica de várias amostras fecais, foi possível confirmar a existência de três enterotipos, identificáveis pela variação de um dos três géneros dominantes: *Bacteroides* (enterotipo 1 ou bacteroides), *Prevotella* (enterotipo 2 ou prevotella) e *Ruminococcus* (enterotipo 3 ou ruminococcus) (Clemente et al., 2012; Siezen & Kleerebezem, 2011).

Surpreendentemente, os enterotipos não estão relacionados com a nacionalidade, a idade, o sexo ou o índice de massa corporal, mas sim com o tipo de alimentação (Siezen & Kleerebezem, 2011). Num estudo de Wu et al, estudaram-se 10 indivíduos com enterotipo *bacteroides* durante 10 dias, mantendo-os numa dieta rica em gordura e pobre em fibra ou rica em fibra e pobre em gordura. Em todos, houve um rearranjo da composição do microbioma. No entanto, não foi suficiente para mudar o enterotipo. Deste modo, comprova-se que uma alteração a curto prazo da dieta não é suficiente para alterar o enterotipo. Os mesmos autores concluíram que apenas uma alteração da dieta a longo prazo altera o enterotipo (Wu et al., 2011). Tal ocorre, principalmente, nos enterotipos *bacteroides* e *prevotella* que aparentam ser extremamente estáveis ao longo da vida (Voreades et al., 2014).

O enterotipo bacteroides foi associado a uma dieta rica em proteínas e lípidos, nomeadamente de origem animal (Graf et al., 2015; Voreades et al., 2014). Dieta esta que está muitas vezes relacionada com a dieta habitual dos países ocidentais desenvolvidos. Está ainda relacionada com uma maior incidência de obesidade e de síndrome metabólico (Graf et al., 2015).

Quando ao enterotipo prevotella, este está relacionado com o consumo de frutas, vegetais e alimentos com alto teor em fibras, normalmente relacionado com dietas vegetarianas e vegans (Graf et al., 2015; Voreades et al., 2014).

Um dos problemas relacionados com os estudos em dietas vegetarianas é que é difícil definir um padrão alimentar, visto que são dietas muito específicas. Pelo que, habitualmente, se considera que a única diferença em relação a uma dieta omnívora é a ausência de carne e derivados. Até à data foram feitos poucos estudos que comparem a composição do microbioma fecal entre vegetarianos e omnívoros.

Segundo Matijasic et al, os vegetarianos apresentam um aumento de bactérias consideradas benéficas, entre elas, as do género *Bacteroides* e *Prevotella*, e em

particular as bactérias *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Clostridium clostridioforme* e *Faecalibacterium prausnitzii*. No entanto, também se encontrou uma diminuição em percentagem de espécies de *Clostridium* (Matijašić et al., 2014).

O enterotipo ruminococcus ainda não se encontra bem definido, sendo que alguns autores duvidam da sua existência (Huse et al., 2008; Jeffery, Claesson, O'Toole, & Shanahan, 2012; Wu et al., 2011).

Segundo Huse et al, não se considera este enterotipo, embora as bactérias do género *Ruminococcus* estejam associadas ao enterotipo *bacteroides*. Tendo em conta este estudo, apenas se identificam dois biótipos: *bacteroides-ruminococcus* e *prevotella* (Huse et al., 2008).

3. Fatores que influenciam o microbioma intestinal

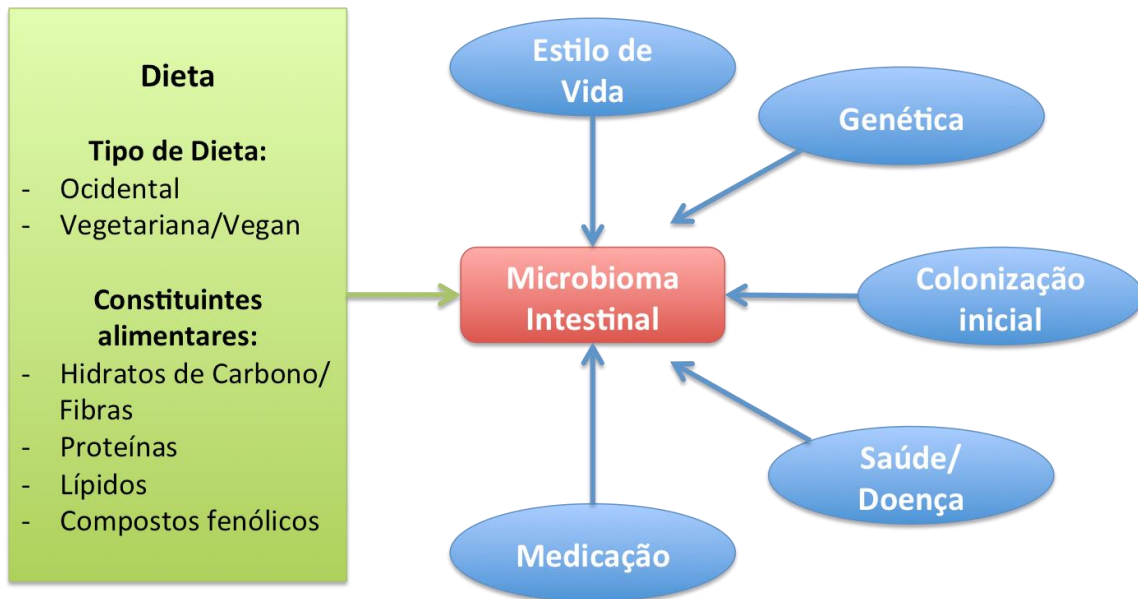


Figura 1: Fatores que influenciam o microbioma intestinal com especial destaque na dieta alimentar (adaptado de Graf et al, 2015)

São muitos os fatores que influenciam o microbioma intestinal. Além do tipo de parto, a alimentação nos primeiros anos de vida e a idade, há outros fatores a ter em conta, como a genética, o uso de antibióticos, as condições sanitárias, o estilo de vida adotado e os hábitos alimentares ao longo da vida.

Existem outros, como os fatores ambientais, as viagens e mesmo a localização geográfica. Todos têm importância e influenciam as populações microbianas (Conlon & Bird, 2015).

Antibióticos

O uso de antibióticos tem sido considerado excessivo nas últimas décadas. Estes diminuem a população comensal de bactérias e permitem um crescimento de bactérias patogênicas, que se podem tornar resistentes aos antibióticos. No caso da colonização por *Clostridium difficile*, esta pode resultar em infeções potencialmente fatais (Dethlefsen, Huse, Huber, Relman, & Sogin, 2008; Voreades et al., 2014).

Durante a toma de antibióticos, há mudanças profundas na composição do microbioma, sendo que muitas delas ainda se mantêm meses após o fim da terapêutica, podendo haver uma diminuição a longo prazo da diversidade microbiana. Embora o microbioma intestinal tenha a capacidade de recuperar, há sempre uma diminuição da

resistência à colonização, pelo que é possível que os microrganismos externos superem as bactérias comensais, podendo originar mudanças permanentes no microbioma (Sommer, Dantas, & Church, 2009).

Em 2009, colocou-se pela primeira vez a hipótese de que o uso repetido de antibióticos pudesse aumentar a quantidade de genes resistentes a antibióticos no nosso microbioma. Pensa-se que a solução para este problema está na prescrição consciente e o uso racional dos antibióticos, de modo a reduzir a possibilidade de haver resistência aos mesmos (Clemente et al., 2012).

Estilo de vida

Adotar um estilo de vida saudável é muito importante para a conservação da saúde. Pelo contrário, o sedentarismo, os excessos alimentares, o tabaco e o stress podem pôr em risco o equilíbrio do nosso organismo.

Tanto o tabaco como a falta de exercício constituem fatores de risco para o cancro colorectal (Huxley et al., 2009). Os fumadores têm um aumento do rácio *Bacteroides-Prevotella*, pelo que fumar está intimamente relacionado com alterações no microbioma (Benjamin et al., 2012). As partículas tóxicas aéreas podem chegar ao intestino grosso através da clearance mucociliar dos pulmões (Beamish, Osornio-Vargas, & Wine, 2011).

O stress interfere na atividade motora do colón através do eixo cérebro-intestinos, devido a estes dois órgãos estarem interligados através do nervo vago. Deste modo, conseguem alterar o perfil microbiano como, por exemplo, diminuindo a quantidade de *Lactobacillus* benéficos (Lutgendorff, Akkermans, & Söderholm, 2008).

Dieta

Há evidências de que a dieta influencia a abundância de certos grupos bacterianos e que estes são influenciados pela composição dos macronutrientes ingeridos (Voreades et al., 2014). O facto de certos tipos de alimentos estarem relacionados com um determinado enterotipo sugere que a dieta represente uma forte influência na composição do microbioma intestinal (Graf et al., 2015).

A dieta é um dos principais fatores que influenciam o microbioma intestinal. Com o crescente conhecimento sobre a sua composição, surgiu também a tentativa de o otimizar através da dieta.

De todos os fatores exógenos que afetam o microbioma, é a dieta a longo prazo que tem o maior efeito. Apesar da resiliência do microbioma, já foi provado que a dieta a curto prazo não é suficiente para “tratar” a obesidade (Xu & Knight, 2014).

Este tema será desenvolvido mais detalhadamente no capítulo 5.

4. Evolução do microbioma ao longo da vida

4.1. Infância

O momento da fecundação dá início à vida humana. Durante a gestação, formam-se os nossos órgãos, incluído o intestino. O trato gastrointestinal do feto é considerado estéril, até ao nascimento, após o qual é colonizado por milhões de bactérias (Clemente et al., 2012).

Segundo DiBaise et al, a nossa flora intestinal é determinada no primeiro ano de vida. No entanto, serão precisos cerca de 3 anos até haver uma estabilização da mesma (DiBaise et al., 2008).

Há diversos fatores que influenciam o microbioma intestinal que são específicos do primeiro ano de vida, e que vão influenciar a colonização do intestino. Estes fatores são: o tipo de parto, a dieta do recém-nascido, o uso de medicamentos e o nível de higiene (Tsukumo et al., 2014). Estes fatores têm bastante importância na estrutura do microbioma intestinal a longo prazo. Tendo em conta que o microbioma está em constante exposição com os componentes da alimentação, a dieta faz com que ocorram mudanças no intestino durante a infância e contribui para a estabilização do microbioma (Voreades et al., 2014).

É no momento do parto que começa a colonização, quando o recém-nascido contacta com as bactérias presentes no ambiente e na mãe (flora fecal e vaginal). É nesta altura que o microbioma se caracteriza por ter pouca diversidade de espécies bacterianas e, também por grandes taxas de fluxos bacterianos (Voreades et al., 2014). As primeiras a colonizar são as bactérias anaeróbicas facultativas, como, por exemplo, a *Escherichia coli* e *Streptococcus* spp. que obrigam as espécies anaeróbias a colonizar o intestino à medida que a quantidade de oxigénio decresce (Karlsson, Tremaroli, Nielsen, & Bäckhed, 2013). Isto é, consomem o oxigénio, criando, deste modo, um ambiente onde as espécies anaeróbias podem prosperar. Estas bactérias anaeróbias vão, posteriormente, dominar o trato gastrointestinal. Esta mudança deve-se, principalmente, à introdução de leite, materno ou artificial, o que significa que esta é a primeira colonização microbiana relacionada com a dieta (Voreades et al., 2014).

Os recém-nascidos de cesariana apresentam um atraso de cerca de 30 dias na colonização de bactérias benéficas como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* em comparação com um recém-nascido de parto vaginal. Deste modo, o tipo de parto vai influenciar o tipo de bactérias colonizadoras. Só a partir do sétimo ano de vida é que se

começam a tornar impercetíveis as diferenças a nível do microbioma de crianças nascidas por cesariana ou parto normal.

Assim, a alimentação vai ter um papel importante no desenvolvimento do microbioma intestinal do recém-nascido, existindo grandes diferenças entre a alimentação com leite materno e com leite artificial.

O microbioma intestinal do recém nascido alimentado com leite materno faz com que haja menor crescimento de bactérias patogénicas (tais como *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*) através da produção de acetato e lactato (Wolowczuk et al., 2008). É através da amamentação que há a proteção do bebé através das *Bifidobacterium spp.*, presentes na flora do recém-nascido (Tsukumo, et al., 2014). Quando o leite materno chega ao intestino, vai existir uma intensa competição microbiana pelo espaço e pelos nutrientes. Os glicanos do leite materno são compostos por oligossacáridos complexos e por glicoconjugados que, habitualmente, passam sem serem digeridos do estômago do bebé visto que este ainda não possui as enzimas que os permitem clivar. As investigações comprovaram que o leite humano tem maior diversidade, complexidade e abundância de nutrientes em relação a leite de outros mamíferos (Hinde & Lewis, 2015). São estes oligossacáridos presentes no leite humano que servem de alimento preferencial às *Bifidobacterium*, grupo bacteriano prevalente no intestino saudável (Hinde & Lewis, 2015).

Apesar de todos os fatores, *Bifidobacterium spp.* é a que se encontra em maior quantidade no intestino de um recém-nascido. Se, no primeiro ano de vida, a criança não tiver bactérias suficientes deste tipo, terá uma maior probabilidade de ganhar peso em excesso no futuro (Tsukumo et al., 2014).

Os recém-nascidos prematuros têm uma maior tendência para ter uma menor colonização intestinal e as bactérias tendem a ser mais patogénicas, o que pode vir a causar problemas de saúde no futuro (Orrhage & Nord, 1999).

Com a introdução das comidas sólidas, a diversidade do microbioma aumenta de modo a conseguir digerir os novos alimentos. Aliás, o facto de os alimentos serem introduzidos na dieta do bebé a pouco e pouco é para que o microbioma intestinal esteja preparado para digerir determinados compostos (Clemente et al., 2012).

Dos 18 aos 36 meses, o microbioma sofre alterações significativas. Nesta idade, faz-se a transição para o microbioma adulto, onde existem predominantemente bactérias dos filos Bacteroidetes e Firmicutes. Estas alterações devem-se à influência da dieta,

particularmente devido à introdução de novos alimentos. Quanto mais cedo este processo acontecer, mais rapidamente o microbioma estabiliza (Bergström et al., 2014).

4.2. Vida adulta

A partir dos 3 anos, o microbioma é considerado adulto (Bergström et al., 2014; De Filippo et al., 2010).

Além da prevalência de Bacteroidetes e Firmicutes, há outros filos com importância, entre eles estão os Proteobacteria, Verrucomicrobiota, Actinobacteria e Euryarchaeota. Apesar do nosso microbioma variar ao longo do tempo, os estudos sugerem que cerca de 60% das nossas estirpes bacterianas mantêm-se inalteráveis durante 5 anos (Faith et al., 2013). Também se observou que as espécies dos filos Bacteroidetes e a Actinobacteria eram menos suscetíveis a perturbações, quando comparados com as de Firmicutes e Proteobacteria, que são mais instáveis.

4.3. Idosos

Com o envelhecimento, ocorrem profundas mudanças em todo o organismo humano, pelo que o microbioma intestinal também se modifica.

Com o avançar da idade, a estabilidade e a diversidade do nosso microbioma tende a diminuir, o que pode originar inflamação (Karlsson et al., 2013). Este facto leva a uma redução do número de bactérias anaeróbias (presentes no intestino adulto em grande quantidade) e um aumento de Enterobacteriaceas. O envelhecimento está relacionado com um aumento significativo de enterobactérias e espécies de *Clostridium*, que podem ser consideradas patogénicas. Leva ainda a uma diminuição das *Bifidobacterium*, protetoras do trato intestinal (Tsukumo et al, 2014).

Ainda assim, pode-se afirmar que, se um indivíduo se mantiver saudável, as alterações do microbioma não vão ser muito relevantes. Por oposição, há fatores fisiológicos a nível da saúde do idoso que podem influenciar o microbioma, tais como a disgeusia (perda do paladar), a anosmia (perda de olfato) e a disfagia (dificuldade em deglutir) que podem levar a má nutrição; debilitação do sistema digestivo; falta de mobilidade; mudanças significativas na vida pessoal como, por exemplo, em caso de internamento ou ir viver para um lar; a polimedicação e excesso de antibióticos (Claesson et al., 2011).

5. A interação do microbioma intestinal com a dieta

Como já foi referido, a dieta é um dos fatores mais influentes nas alterações do microbioma intestinal. O tipo de dieta (ocidental, vegetariana, vegan), e até os constituintes dos alimentos ingeridos têm um papel fundamental na saúde e no próprio microbioma intestinal.

A digestão é a transformação dos alimentos de forma a conseguirem ser absorvidos pela circulação sanguínea. A digestão tem uma parte mecânica (devido aos movimentos peristálticos) e uma química (devido às enzimas digestivas).

O sistema digestivo é composto pelo trato gastrointestinal (cavidade oral, faringe, esófago, estômago, intestino delgado, intestino grosso e ânus) e pelos órgãos anexos (glândulas salivares, fígado e pâncreas). Como o trato gastrointestinal é contínuo e o seu início e fim se encontram em contacto com o meio exterior, este é considerado exterior ao organismo humano.

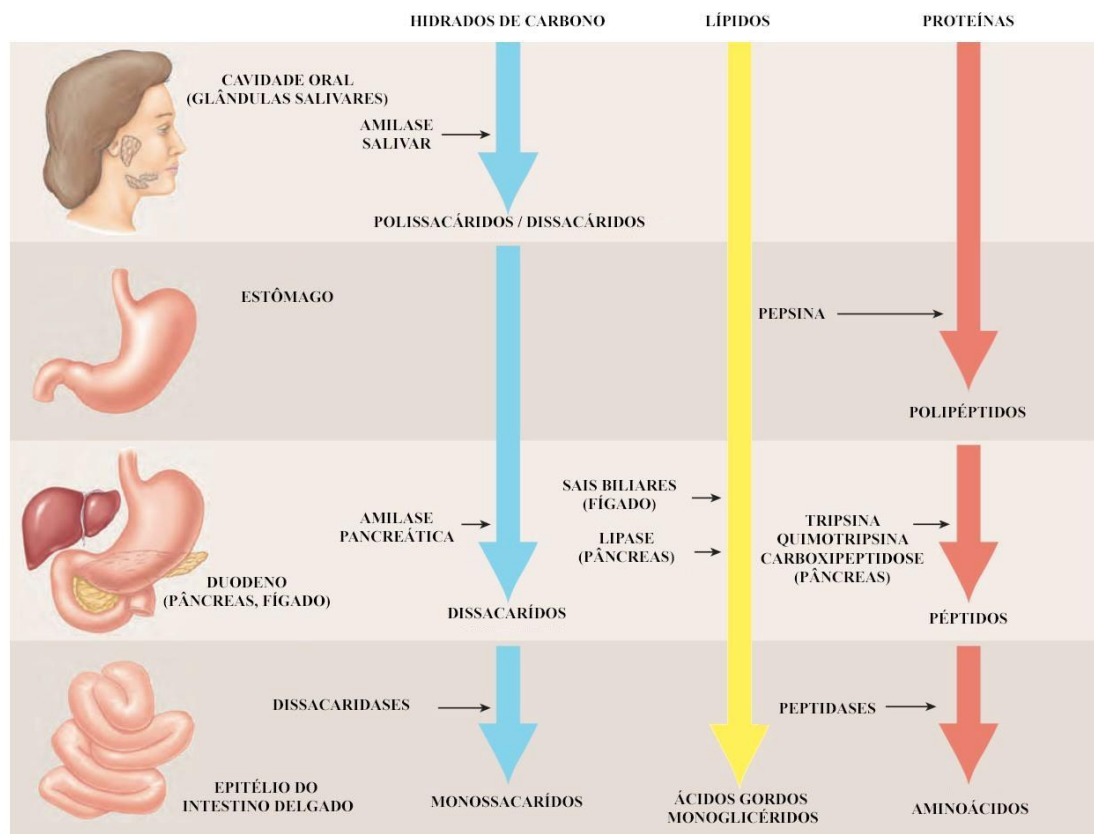


Figura 2: Digestão dos hidratos de carbono, lípidos e proteínas

(traduzido e adaptado de VanPutte, C., Reagan, J., Russo, A. (2012))

A digestão começa na cavidade oral com a ingestão dos alimentos, embora estes não permaneçam lá muito tempo. A mastigação em conjunto com a saliva aumentam a eficiência da digestão. A saliva contém a amílase salivar, uma enzima digestiva, que tem particular interesse na digestão dos hidratos de carbono. Estes são ingeridos sob a forma de polissacáridos, no entanto, a amílase inicia a sua transformação em dissacáridos. Ao deglutir, os alimentos mastigados são transportados para o esófago, onde vão sofrer a ação dos movimentos peristálticos até chegarem ao estômago. Este bolo alimentar, ao chegar ao estômago, é misturado e sofre a ação do ácido clorídrico que diminui o pH e ativa a pepsina. A esta é atribuída a função de transformar as proteínas em polipeptidos. O estômago produz, ainda, o fator intrínseco, que se liga à vitamina B12 e permite que esta seja absorvida no intestino delgado. Deste modo, o bolo alimentar é transformado em quimo. No intestino delgado, este sofre a ação das enzimas do epitélio intestinal que ajudam no final do processo digestivo. Entre elas, as peptidases que transformam os péptidos em aminoácidos e as dissacaridases que quebram as ligações dos dissacáridos para monossacáridos. Deste modo, os aminoácidos e monossacáridos são absorvidos no epitélio intestinal. É também no intestino delgado que são absorvidos os nutrientes, bem como alguma água, dando origem ao quilo. Por fim, no intestino grosso, há a transformação do quilo em fezes devido à absorção de água e sais minerais. Há, ainda, secreção de muco e ação de microrganismos para digerir, por exemplo, a celulose, polissacárido derivado das plantas, para o qual o corpo humano não produz enzimas digestivas.

Há poucos estudos em humanos e os que há apresentam ainda bastantes limitações. Normalmente, estuda-se o microbioma intestinal através de amostras fecais, o que apenas permite analisar o microbioma do cólon distal. Além disso, os estudos realizados têm uma amostragem reduzida e os indivíduos têm estilos de vida e tipos de dieta muitos díspares entre si. Coloca-se ainda a questão de as amostras fecais serem referentes a um curto espaço de tempo, não permitindo comprovar o efeito da dieta a longo prazo nem a quantidade total de microrganismos. Para que este tipo de estudos seja válido, é necessário determinar o tipo de dieta habitual e controlá-la durante todo o período de estudo. Apesar de todos estes esforços, continua a ser difícil fazer estudos em humanos e conseguir resultados fidedignos, embora com as novas tecnologias seja cada vez mais fácil (Graf et al., 2015).

O microbioma intestinal tem um papel importante no metabolismo (Karlsson et al., 2013). O objetivo fisiológico do trato gastrointestinal é processar e digerir os

alimentos. Uma das funções metabólicas do microbioma é a fermentação de materiais alimentares não digeridos e substâncias endógenas (Simões, 2014).

5.1. Hidratos de carbono

São a principal fonte de energia do nosso organismo, tratando-se de moléculas orgânicas compostas por carbono, oxigénio e hidrogénio. Estes dividem-se em dois tipos: simples e complexos. Os simples, também denominados de ação rápida, dividem-se em monossacáridos e dissacáridos. Os primeiros, os que conferem o sabor doce aos alimentos, são a frutose (presente nas frutas e no mel), a galactose (no leite e derivados) e a glucose (encontrada em frutas e industrialmente obtida a partir do amido). Quanto aos dissacáridos, inclui-se a sacarose (frutos e vegetais como, por exemplo, a cana de açúcar), lactose (vegetais, leite e derivados) e a maltose (cereais e derivados, legumes, tubérculos) (Nelson & Cox, 2004).

Os hidratos de carbono complexos, de absorção e digestão lenta, são conhecidos como polissacáridos. São exemplos o amido, a celulose e o glicogénio. O amido é o principal composto desta categoria que é ingerido pelo ser humano. É a molécula responsável pelo armazenamento de energia nas plantas e que é digerido pelas enzimas digestivas. A celulose que, como já foi referido, provém da parede celular das plantas e não é digerido pelas enzimas digestivas, é uma importante fonte de fibra. O glicogénio é a molécula responsável pelo armazenamento de energia em animais e que, ao ser cozinhado ou processado, se torna glucose. Estão presentes nas massas, arroz, leguminosas secas, batata e pão (nos últimos dois sobre a forma de amido) (Nelson & Cox, 2004).

Na natureza, os monossacáridos encontram-se maioritariamente associados em polissacáridos através de ligações glicosídicas. O nosso organismo tem uma capacidade bastante limitada de digerir hidratos de carbono, usando apenas algumas configurações de polissacáridos. O processo de digestão dos hidratos de carbono têm como objetivo a sua transformação em monossacáridos (Fox, 1999). Um exemplo de um monossacárido é a glucose, componente essencial às células humanas. Desta forma, os monossacáridos conseguem ser absorvidos pelas células epiteliais do intestino delgado para a corrente sanguínea até chegarem ao fígado. Aqui são transformados em moléculas de glucose. No caso de haver glucose em excesso, esta é convertida em glicogénio (armazenado no músculo) e triglicéridos (armazenados no tecido adiposo).

Todos os hidratos de carbono que as enzimas digestivas não conseguem digerir chamam-se fibras dietéticas e acabam por sofrer fermentação por parte das bactérias que habitam o intestino grosso. A grande maioria da fermentação dos hidratos de carbono ocorre no intestino grosso proximal (Roberfroid, 1993).

Estas fibras representam o principal substrato para as bactérias do cólon. Ao serem fermentadas pelas bactérias, produzem a principal fonte de energia no intestino. Na sua grande maioria, estes hidratos de carbono são amidos resistentes à digestão, como, por exemplo, a celulose, isto é, resistentes às amílases digestivas, e daí chegarem ao cólon não digeridas (Sajilata, Singhal, & Kulkarni, 2006).

As fibras dietéticas dividem-se em dois tipos, relacionados com a sua solubilidade: solúveis e insolúveis. As fibras solúveis são as pectinas, gomas, mucilagens e algumas hemiceluloses. Podemos encontrar este tipo de fibras em quase todas as frutas e vegetais. Estas são prontamente fermentadas pelas bactérias do cólon devido à sua solubilidade em água. Quando em contacto com a água, estas formam um gel viscoso que permite manter os alimentos mais tempo no estômago. Deste modo, proporcionam uma sensação de saciedade (Conlon & Bird, 2015).

As fibras insolúveis são polissacáridos componentes da parede celular das plantas como, por exemplo, celulose e algumas hemiceluloses. Estes compostos estão presentes em frutos com casca comestível e sementes. Por serem insolúveis em água, têm a capacidade de reter água nas fezes, e, conseqüentemente, aumentar o peso e volume do bolo fecal que favorece o peristaltismo, aumentando o número de evacuações e permitindo um correto funcionamento intestinal. Possuem, ainda, a capacidade de se ligarem aos sais biliares, reduzindo a absorção de gorduras e colesterol (Conlon & Bird, 2015; Stephen & Cummings, 1980). Deste modo, os microrganismos e as fibras contribuem para o volume fecal, que é responsável pela saúde do intestino. O consumo de fibras é responsável por diluir e eliminar toxinas através do volume fecal, o que, por sua vez, promove um aumento de bactérias fermentadoras e a presença de fibras com capacidade de reter água (Conlon & Bird, 2015).

A absorção dos hidratos de carbono está relacionada com a anatomia do intestino. As paredes do intestino aumentam de espessura ao longo do comprimento do mesmo. Deste modo, há também um aumento da barreira mucosa. No cólon proximal (constituído pelo ceco, cólon ascendente e cólon transversal) a camada mucosa é bastante fina, pelo que o trânsito intestinal é relativamente rápido e as bactérias vão fermentar os hidratos de carbono mais solúveis e digeríveis. Por outro lado, no cólon

distal, esta barreira mucosa é mais espessa, o trânsito intestinal é mais lento, e os resíduos de hidratos de carbono presentes são menos solúveis, logo, demoram mais tempo a ser fermentados (Koropatkin, Cameron, & Martens, 2012; Matsuo, Akamatsu, & Katsuyama, 1997).

Nas fibras insolúveis, o processo de degradação passa por vários processos. Em primeiro lugar, são decompostos pelas bactérias (degradadoras primárias) que têm a capacidade de digerir os polissacáridos mais complexos. Pensa-se que a maioria da celulose e hemicelulose ingerida é fermentada durante a passagem pelo intestino grosso. Nesta fermentação estão envolvidas bactérias gram-positivo Firmicutes e gram-negativo *Bacteroides spp.* (Flint, Scott, Duncan, Louis, & Forano, 2012). Após a degradação inicial dos hidratos de carbono mais complexos, os polissacáridos solúveis sofrem uma segunda degradação por parte de outras bactérias (degradadoras secundárias) (Koropatkin et al., 2012). Este processo vai permitir cross-feeding, que é um tipo de simbiose entre as bactérias, isto é, onde umas se alimentam do produto de outras. Esta simbiose ocorre entre as bactérias responsáveis pela degradação dos hidratos de carbono mais complexos e as outras espécies bacterianas, envolvendo produtos de fermentação, como o hidrogénio, lactato e produtos parciais da degradação (como, por exemplo, a celobiose que é formada a partir da hidrólise incompleta da celulose) (Scott, Duncan, Louis, & Flint, 2011; Simões, 2014).

Os produtos finais da fermentação dos hidratos de carbono são os ácidos gordos de cadeia curta (SCFA), como o butirato, acetato e propionato; e metabolitos como o lactato, piruvato, etanol e succinato (Blaut & Clavel, 2007). Os SCFAs estão envolvidos na regulação do apetite, homeostase da energia e da glucose e melhoria da sensibilidade à insulina (Byrne, Chambers, Morrison, & Frost, 2015).

O butirato é absorvido pela mucosa intestinal, onde é a maior fonte de energia para o colonócitos (células do cólon), providenciando cerca de 70% das suas necessidades (Pryde, Duncan, Hold, Stewart, & Flint, 2002). O butirato tem propriedades anti-inflamatórias e anti-carcinogénicas (Young, Hu, Le Leu, & Nyskohus, 2005). As bactérias produtoras de butirato são cerca de 5-10% de todas as bactérias do intestino. As mais conhecidas pertencem ao filo Firmicutes (por exemplo, *Eubacterium rectale* e *Roseburia spp.*) e a *Faecalibacterium prausnitzii* (Jeffery & O'Toole, 2013).

Quanto ao acetato e propionato, estes são absorvidos para a corrente sanguínea e utilizados por outros órgãos (Jeffery & O'Toole, 2013). O propionato é transportado para o fígado onde tem um papel na glucogénese, lipogénese e síntese proteica (Hooper,

Midtvedt, & Gordon, 2002). Como bactérias produtoras de butirato, podemos encontrar as da família Veillonellaceae (*Megasphaera*, *Veillonella*, *Megamonas* e *Selenomonas*) (Walker et al., 2005). Quanto ao acetato, este é transportado pela corrente sanguínea até aos tecidos periféricos, sendo um substrato para a síntese de lípidos e colesterol (Hooper et al., 2002). É também utilizado por bactérias produtoras de butirato (Duncan et al., 2004).

Em 2003, vários estudos descobriram que, no intestino delgado e cólon, existiam recetores transmembranares proteicos que eram ativados na presença de SCFAs (Brown et al., 2003; Le Poul et al., 2003). Estes recetores pertencem à família dos recetores acoplados à proteína-G, e foram denominados de FFA2 e FFA3 (free fatty acid receptors). O mRNA dos recetores FFA2 e FFA3 também foi encontrado noutras áreas do organismo humano, pelo que os SCFAs podem ter efeitos benéficos em tecidos e órgãos além do intestino (Brown et al., 2003).

5.2. Proteínas

As proteínas são macromoléculas compostas por cadeias de aminoácidos. Estas são extremamente hidrófilas, razão pela qual não necessitam de ácidos biliares para serem digeridas. Cerca de metade do material proteico necessário diariamente provem da nossa dieta, sendo que o resto é produzido endogenamente (Ahnen, 1995).

As proteínas ingeridas sofrem mudanças estruturais durante a ingestão, digestão e absorção, dependendo do tipo e estado de processamento em que se encontram na altura da ingestão (Ahnen, 1995).

É o estômago que secreta a pepsina, enzima indispensável na digestão das proteínas em polipéptidos. No intestino delgado, estes péptidos são depois digeridos por peptidases e transformados em aminoácidos. Os aminoácidos são absorvidos e transportado para várias partes do corpo humano. Alguns são metabolizados, levando à produção de ATP, nucleotídeo responsável pelo armazenamento de energia. O organismo não tem capacidade para armazenar aminoácidos, logo, aqueles que não são gastos, são convertidos em lípidos.

No entanto, alguns péptidos continuam não hidrolisados. Deste modo, os péptidos estão no intestino em diversos estádios do processo de digestão, pelo que podem exercer uma enorme variedade de funções no trato gastrointestinal (Shimizu & Son, 2007).

A fermentação de proteínas ocorre majoritariamente no cólon distal, onde as bactérias as podem usar como fonte de energia. Com o avançar da digestão e quando os hidratos de carbono começam a escassear porque já foram absorvidos, os péptidos e aminoácidos tornam-se a nova fonte de energia para o microbioma. Assim, de modo a continuar a obter energia da dieta, as bactérias têm de passar a fermentar proteínas. Estas bactérias com capacidade proteolítica são, principalmente, *Bacteroides* spp. e *Propionibacterium* spp., embora também estejam presentes as espécies de *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* e *Bacillus* (Simões, 2014). Devido à presença em grande escala das bactérias *Bacteroides* spp. no cólon, comprova-se que estas estão relacionadas com o consumo de carne, ou seja, estão relacionada com o tipo de dieta ocidental e com o enterotipo *bacteroides* (Simões, 2014; Voreades et al., 2014).

A degradação anaeróbica de proteínas origina metabolitos tóxicos, como, por exemplo, a amónia. Tendo em conta que a principal fonte de proteína deriva da ingestão de carne e que os metabolitos que daí derivam terem sido considerados carcinogénicos, pode-se vir a estabelecer uma relação entre a ingestão de carne, fermentação de proteína animal e cancro colorctal (Windey, de Preter, & Verbeke, 2012).

A ingestão de proteína tem vindo a tornar-se cada vez mais importante na saúde, visto que cada vez mais se usam dietas hiperproteicas como forma de perder ou manter peso (Simões, 2014).

5.3. Lípidos

Nos lípidos, estão incluídos os ácidos gordos, isto é, ácidos carboxílicos com cadeias alifáticas mais ou menos longas. Também são denominados de gorduras e podem ser saturados (sem ligações duplas) ou insaturados. Estes últimos, tendo em conta o número de insaturações, dividem-se em monoinsaturados ou polinsaturados. Nos lípidos, normalmente existem misturas destes dois tipos de ácidos gordos: ácidos gordos saturados (SFA) e os insaturados (que se dividem em ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) e ácidos gordos polinsaturados (PUFA) (Mahan & Escott-Strump, 2004).

Além de serem essenciais à digestão e absorção, são responsáveis pelo transporte de vitaminas e fitoquímicos lipossolúveis (carotenos e licopenos) (Mahan & Escott-Strump, 2004), diminuem o tempo de esvaziamento gástrico e reduzem as secreções gástricas, ao mesmo tempo que estimulam o fluxo pancreático e biliar. A absorção de lípidos no intestino é eficiente, dependendo da quantidade ingerida (Fava et

al., 2012). No caso de ingestão em excesso, algumas frações podem não ser absorvidas, passando para o colón, o que não é desejável. Assim, uma dieta rica em lípidos pode contribuir para o aumento da quantidade de gorduras e ácidos biliares que conseguem chegar ao cólon, onde não são absorvidos. Foi ainda sugerido que o microbioma intestinal é capaz de metabolizar alguns lípidos, converter os ácidos biliares primários em secundários e ter um impacto na circulação entero-hepática dos ácidos biliares e absorção de gorduras (Simões, 2014; Zhang et al., 2009).

5.4. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos estão presentes em frutas, chá, café, vinho e chocolate, embora também possam ser encontrados em menor quantidade nos vegetais, cereais e sementes (Scalbert, Morand, Manach, & Rémésy, 2002).

São um grupo de moléculas com propriedades antioxidantes e antimicrobianas, dão cor e paladar aos alimentos, estando bastante presentes na nossa dieta. Também são a maior fonte de flavonoides. Devido às suas propriedades, são-lhes atribuídas funções de proteção contra doenças cardiovasculares, cancro e doenças degenerativas (Scalbert et al., 2002).

Os flavonoides podem ser absorvidos no trato gastrointestinal, mas só de forma lenta e, por vezes, incompleta, o que leva a que a sua absorção seja muito variável (Duda-Chodak, 2012). Os compostos fenólicos que não são absorvidos têm um efeito benéfico a nível dos tecidos e do microbioma intestinal. Os fenóis presentes no chá têm a capacidade de inibir bactérias patogénicas como *Clostridium perfringens* e *Clostridium difficile*, sendo que, ao mesmo tempo, não afetam as *Bifidobacterium*, *Lactobaccillus* spp. e *Clostridium* spp. não patogénicos (Scalbert et al., 2002). Também os fenóis do vinho tinto aumentam certas bactérias benéficas, entre elas *Enterococcus*, *Prevotella*, *Bacteroides* e *Bifidobacterium* (Scalbert et al., 2002; Simões, 2014).

5.5. Probióticos

“A promessa da investigação resulta, em grande parte, no futuro dos probióticos... Eventualmente, pode tornar-se possível restaurar a saúde do microbioma simplesmente por engolir uma cápsula com biliões de células bacterianas, ou por comer um iogurte”(Specter, 2012).

Foi no início do século XX que o cientista russo Metchnikoff introduziu o

conceito de que o ser humano devia absorver grandes quantidades de bactérias benéficas para o organismo. Ele sugeria que seria possível substituir os microrganismos prejudiciais por bactérias benéficas como é o caso dos probióticos (Metchnikoff, 1907). Os probióticos são consumidos através de alimentos fermentados com adição de culturas bacterianas vivas, tais como o iogurte e suplementos alimentares. Segundo a Organização Mundial de Saúde e a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, os probióticos devem conter organismos vivos que se devem manter assim durante toda a validade do produto. Deste modo, têm também de resistir aos sucos gástricos e à bÍlis, para que possam colonizar o trato digestivo humano (WHO & FAO, 2001).

Normalmente, os probióticos são bactérias ácido-lácticas (LAB) que são extremamente usadas em preparações terapêuticas e adicionadas à alimentação. As LAB são um grupo heterogéneo de microrganismos, onde a maioria pertence ao filo Firmicutes. Os probióticos já se consideram benéficos para a saúde, no entanto os seus mecanismos de ação ainda não estão esclarecidos. Os potenciais mecanismos de ação passam pela modulação da absorção de energia, microbioma intestinal e barreira mucosa do intestino e imunomodulação (Barz et al., 2015).

Atualmente, os probióticos são muito importantes, quer a nível da alimentação (presentes, por exemplo, nos iogurtes) quer a nível da medicina (usados para o reequilíbrio da flora intestinal e melhoria do trânsito intestinal). Os mais usados na medicina são para o tratamento da diarreia, quer esta seja associada a antibióticos, do viajante ou associada a síndrome do intestino irritável. Entre as opções terapêuticas, encontram-se os *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Saccharomyces*. É-lhes atribuído, como possível mecanismo, a proteção das células epiteliais e a função de barreira, a prevenção de enterotoxinas e a regulação dos microrganismos no intestino (Yan & Polk, 2006). Outros autores, além dos probióticos já referidos, defendem que os *Enterococcus* são também muito promissores a nível terapêutico (Aggarwal, Swami, & Kumar, 2013).

Os probióticos tem sido usados para combater patologias gastrointestinais como diarreias ou intolerância à lactose (Mateos, 2007), têm efeitos anti-inflamatórios e imunomoduladores, estimulam a resposta imunitária e têm a capacidade de restaurar a disbiose relacionada com a obesidade (Barz et al., 2015; Taylor, Champagne, Gardner, & Roy, 2007). Além disso, estima-se que o consumo de probióticos de forma regular possa reduzir o risco de cancro colorectal, diminuir os níveis de colesterol e estimular o sistema imunitário (Aggarwal et al., 2013).

5.6. Prebióticos

Os prebióticos são hidratos de carbono não digeríveis e não absorvíveis que, “após metabolização pelos microrganismos presentes no intestino, têm a capacidade de modular a composição e/ou atividade do microbioma intestinal” (Bindels et al., 2015). Deste modo, servem de substrato aos probióticos e ao microbioma intestinal (Barz et al., 2015).

O objetivo da ingestão dos prebióticos é o incremento da flora intestinal, ajudando a otimizar as suas funções. Como funções conhecidas, pode-se considerar o favorecimento da flora intestinal, a promoção da absorção de cálcio e regulação do metabolismo hepático dos lípidos (Barz et al., 2015; Schrezenmeir & Vrese, 2001) e efeitos benéficos na perda e manutenção do peso (Sanchez et al., 2014).

Os prebióticos são incorporados em vários produtos, como, por exemplo, nas bolachas e em sumos. Os mais usados são a inulina e outros frutoligossacáridos visto que promovem o crescimento de *Bifidobacterium spp.* (Mateos, 2007; Schrezenmeir & Vrese, 2001). No caso específico da inulina, esta tem sido associada ao estímulo da atividade imunitária (Barz et al., 2015).

6. Obesidade

Nos últimos cinco anos, tem surgido um grande número de estudos que apontam para a relação do microbioma com o desenvolvimento de comorbidades, nomeadamente, obesidade, cancro coloretal, síndrome do cólon irritável, doença inflamatória do intestino, diabetes tipo 2 e síndrome metabólico (Furet et al., 2010; revisto por Ley, 2010). A relação do microbioma com a obesidade pode envolver inflamação e alterações na absorção de nutrientes e metabolismo.

Existem vários fatores desencadeantes da obesidade, entre eles, desequilíbrios na composição do microbioma intestinal ou na proporção de certos microrganismos e o tipo de dieta. Também as cirurgias bariátricas têm tido um enorme impacto na regularização da composição do microbioma intestinal após perda de peso.

Devido à relação microbioma-obesidade, começam a surgir novas terapêuticas como o transplante fecal.

6.1. O microbioma intestinal e a obesidade

A obesidade pode ser definida como um estado fisiológico, presente maioritariamente na população com uma dieta ocidental (Ley, 2010). É uma condição em que há excesso de acumulação da massa gorda, de tal modo que provoca um impacto negativo na saúde de um indivíduo (Davis, Mudd, & Hawkins, 2014). A obesidade está associada a excesso de consumo de calorias e estilos de vida sedentários. Por exemplo, o exercício físico ou a falta dele pode influenciar mudanças na composição do microbioma. Num estudo recente, demonstrou-se um aumento da diversidade bacteriana no intestino em atletas profissionais, como resposta ao exercício e dieta saudável (Conlon & Bird, 2015).

No entanto, alguns indivíduos aparentam ser mais suscetíveis a um ambiente obesogénico do que outros, o que sugere que a obesidade esteja relacionada com um componente hereditário. Estima-se que a hereditariedade possa influenciar a obesidade em 40-70% (Allison et al., 1996).

A obesidade é uma doença relacionada com inflamação subclínica crónica. Esta inflamação está associada a citocinas, como o TNF- α (fator necrótico tumoral α) e a IL-1 β (interleucina 1 β) e aumento de mastócitos, células T e macrófagos. A par da inflamação subclínica e das alterações a nível do microbioma intestinal, pode vir a desenvolver-se o síndrome metabólico (Clemente et al., 2012). A inflamação é definida pelo aumento dos níveis plasmáticos da proteína C-reativa. O tecido adiposo é

determinante, ao secretar moléculas capazes de alterar a homeostase metabólica (Clement & Langin, 2007).

A epidemia da obesidade deu origem a que se tentasse identificar dos mecanismos associados ao excesso de massa gorda (Furet et al., 2010). Surgem algumas teorias, embora muito esteja ainda por esclarecer (Clemente et al., 2012).

A obesidade é o resultado da ingestão excessiva de calorias na dieta, mais do que aquelas que o organismo é capaz de gastar. Naturalmente, o organismo consegue lidar com o excesso de calorias de três maneiras: 1) conversão do excesso em gordura, armazenando-a no tecido adiposo; 2) “queimar” o excesso de calorias através do exercício físico extra; 3) utilizar o excesso para produção de calor (termogénese). O equilíbrio entre o consumo e o gasto de energia é obtido através de um conjunto complexo de sinais hormonais e neuronais. Estes mecanismos são também responsáveis por manter o tecido adiposo num nível normal (Nelson & Cox, 2004).

Estudos recentes demonstraram que o microbioma intestinal está relacionado com o desenvolvimento da obesidade, devido à sua capacidade de modificar a regulação e armazenamento de energia obtida a partir dos nutrientes (DiBaise et al., 2008). O microbioma é capaz de extrair energia adicional a partir dos alimentos não digeridos (Turnbaugh et al., 2006) e regular o armazenamento de massa gorda (Bäckhed et al., 2004). Além disso, o microbioma pode afetar a adiposidade através da sua influência no metabolismo do hospedeiro (Ley, 2010).

Em estudos onde se pretende verificar a influência do microbioma, normalmente são utilizados os ratinhos germ-free, animais sem qualquer colonização por microrganismos. Estes ratinhos nascem de cesariana, de modo a impedir a colonização no momento do parto, e são criados em ambientes estéreis.

Bäckhed et al, verificaram que os ratinhos germ-free, em condições assépticas, são muito mais magros do que os ratinhos normais, embora tenham uma maior ingestão calórica. Além disso, são resistentes à obesidade induzida pela dieta e insulinoresistência (Bäckhed, Manchester, Semenkovich, & Gordon, 2007). A presença do microbioma provoca um aumento dos níveis séricos de glucose e ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs), ambos responsáveis pela indução da produção de triglicéridos no fígado, pelo que estão associados a maior adiposidade e redução da tolerância à glucose (Bäckhed et al., 2004, 2007).

A incidência da diabetes tipo 2 tem vindo a aumentar paralelamente à obesidade, visto que os fatores de risco para esta doença incluem a dieta e o microbioma intestinal

(Larsen et al., 2010). A inflamação subclínica é observada em pacientes com diabetes tipo 2, e aumento dos níveis de lipopolissacarídeo (LPS) no plasma, um componente da membrana das bactérias gram negativas, que demonstraram afetar a metabolização da glucose (Patrice D Cani et al., 2007).

Em 2013, foi feita pela primeira vez a relação entre um microbioma intestinal alterado e a insulinoresistência em humanos. Através da sequenciação do metagenoma intestinal, revelou-se que as bactérias produtoras de butirato, também conhecidas pelas propriedades anti-inflamatórias, eram menos abundantes em pacientes com diabetes tipo 2 em relação a indivíduos saudáveis (Karlsson et al., 2013).

Os níveis de sensibilidade à insulina e de bactérias produtoras de butirato aumentaram em pacientes com síndrome metabólica após transplante com microbioma intestinal de doadores magros. No entanto, verificou-se que, transplantar um microbioma sem ser fracionado, tem riscos, pelo que é desejável encontrar uma abordagem mais direta para o transplante de um microrganismo ou de um conjunto deles (Vrieze et al., 2012).

6.2. Diferenças de composição entre microbioma magro e microbioma obeso

O microbioma de um indivíduo obeso tem uma maior proporção de Firmicutes e, correspondentemente, uma menor de Bacteroidetes, sendo que este rácio ficou normalizado em indivíduos após perda de peso (Aggarwal et al., 2013; Karlsson et al., 2013). Estas mudanças foram independentes da dieta, mas proporcionais à quantidade de peso perdido. Foi também comprovado que não foi apenas um membro dos Firmicutes ou Bacteroidetes que diminuiu ou aumentou, mas sim um grande grupo de bactérias. Já tinha sido demonstrado em vários estudos que estes dois grupos dominavam o microbioma, mantendo uma estabilidade interindividual notável ao longo do tempo (Aggarwal et al., 2013).

É usual encontrar estudos com ratinhos de laboratório, pois estes conseguem ser colocados em condições ideais e sob dietas controladas. Em modelos animais, usam-se fatores ambientais e genéticos para induzir a obesidade e provocar uma mudança no microbioma (Clemente et al., 2012).

No estudo de Ley et al, os ratinhos germ-free foram colonizados com um microbioma que levou a um aumento de massa gorda e desenvolveu insulinoresistência, apesar da redução em 30% do consumo calórico. Estas mudanças

estão associadas a disbiose em ratinhos obesos e consequente aumento das Firmicutes e diminuição das Bacteroidetes (Ley et al., 2005).

Outro estudo, sugeriu a relação entre o microbioma e a produção de LPS. Este é um dos principais componentes da membrana exterior das bactérias gram-negativo. Também o aumento de casos de endotoxemia (circulação de lipopolissacarídeo no sangue) foi associado ao aumento do consumo de gorduras (Patrice D Cani, Bibiloni, Knauf, & Neyrinck, 2008).

O estudo de Le Chatelier et al, comparou dois grupos de indivíduos, um com pouca diversidade microbiana (Low Gene Count - LGC) e outro com grande diversidade microbiana (High Gene Count - HGC). Sendo que, os LGC têm maior quantidade de bactérias dos filos Proteobacteria e Bacteroidetes, enquanto que os HGC têm maior população de bactérias dos filos Verrucomicrobia, Actinobacteria e Euryarchaeta. Mais uma vez se demonstra que a maior diversidade bacteriana no microbioma, indivíduos HGC, está relacionada com a presença de bactérias benéficas como a *F. prausnitzii*, que não se encontra em indivíduos LGC. Nestes últimos, encontram-se bactérias potencialmente inflamatórias como os do género *Bacteroides*.

Relativamente ao fenótipo da adiposidade, este está mais presente em indivíduos LGC. Estes apresentam um aumento da leptina sérica, triglicerídeos e ácidos gordos livres, no entanto existe uma diminuição da adiponectina sérica e do HDL. Também se verifica o fenótipo da inflamação mais marcado (aumento da proteína c-reativa e maior quantidade de leucócitos). Por todos estes fatores, estes indivíduos LGC têm uma maior probabilidade de serem obesos. Além disso, apresentam uma maior expressão do gene ANGPTL4 que codifica para a proteína angiopoietin-like 4, também conhecido como fator de adiposidade induzida pelo jejum (FIAF) (Le Chatelier et al., 2013).

Em indivíduos com HGC, foram encontradas espécies produtoras de butirato que têm propriedades protetoras contra o ganho de peso, como a *F. prausnitzii*, que se encontravam diminuídas em indivíduos LGC. Deste modo, os indivíduos que apresentavam menos butirato, os LGC, tinham maior probabilidade de ter excesso de peso (Le Chatelier et al., 2013).

6.3. A relação entre a obesidade e a dieta

Ainda há poucos estudos com humanos acerca da contribuição de dietas com alto teor em gorduras na composição do microbioma intestinal (Simões, 2014).

Segundo o estudo de Brinkworth et al, indivíduos com uma dieta pobre em hidratos de carbono e rica em gorduras apresentaram, na amostra fecal, uma diminuição de bifidobactérias, concentração de butirato, ácidos gordos de cadeia curta, frequência de defecação e excreção fecal, quando comparados com indivíduos com uma dieta rica em hidratos de carbono e pobre em gordura (Brinkworth, Noakes, Clifton, & Bird, 2009).

Em 2009, usaram-se ratinhos normais e ratinhos resistentes à obesidade induzida, para testar a relação entre a dieta e as mudanças a nível do microbioma. Em ambas as situações ocorreu um aumento considerável de Proteobacteria, Firmicutes e Acinobacteria e uma redução de Bacteroidetes (Hildebrandt et al., 2009; Simões, 2014). No estudo de Murphy et al, foram comparados três grupos de ratinhos: 1) ratinhos com obesidade geneticamente induzida com uma dieta pobre em gordura; 2) ratinhos com dieta rica em gordura e 3) ratinhos com dieta pobre em gordura. Em todos eles se observaram modificações no microbioma fecal, pelo que se constatou que se devia mais à dieta do que à obesidade geneticamente induzida (Murphy et al., 2010).

Deste modo, podemos concluir que a gordura da dieta é o que mais provoca alterações na composição do microbioma intestinal, mesmo quando comparado à obesidade do hospedeiro (Simões, 2014).

Além da importância da gordura, há vários estudos que explicam o papel fundamental dos hidratos de carbono na regulação do apetite (P D Cani, Neyrinck, Maton, & Delzenne, 2005; Patrice D. Cani, Dewever, & Delzenne, 2004; Delmée et al., 2006). Estudos em modelos animais, demonstraram que, a adição de hidratos de carbono na dieta reduzia a ingestão calórica, o que sugere um efeito de saciedade. A maior ingestão de hidratos de carbono e consequentemente SCFAs foram associados a um aumento da concentração plasmática de hormonas anorexigénicas como, por exemplo, GLP-1 (glucagon-like peptide 1) e PYY (péptido YY) (Patrice D. Cani et al., 2004). Estas hormonas estão bastante presentes no trato gastrointestinal, principalmente no íleo e cólon, sendo secretadas em resposta à ingestão dos alimentos. Conhecido este mecanismo de ação, este tipo de hormonas tornaram-se um alvo para terapias anti-obesidade (Byrne et al., 2015).

Vários estudos, comprovaram que a deteção de SCFAs por parte dos recetores FFA2 e FFA3 dá origem à secreção deste tipo de hormonas (Byrne et al., 2015).

Existem alguns estudos em humanos mas não são tão conclusivos como os estudos com modelos animais. Tal deve-se ao facto de dietas ricas em hidratos de

carbono poderem provocar efeitos gastrointestinais adversos em humanos. No entanto, é provável que o consumo elevado de hidratos de carbono estimule as hormonas intestinais, atrase o esvaziamento gástrico e o trânsito intestinal, tal como acontecia nos modelos animais (Byrne et al., 2015).

Outra estratégia para a perda de peso é a substituição do açúcar e gorduras por alternativas pouco ou nada calóricas. Um dos exemplos é o uso de adoçantes artificiais não calóricos (NAS), entre eles a sacarina, sucralose e o aspartame (Feehley & Nagler, 2014). Há mais de um século que estes foram introduzidos na alimentação, estando presentes em produtos light e sugar-free (por exemplo em refrigerantes, iogurtes, cereais, pastilhas e sobremesas) (Gardner et al., 2012).

Num estudo de Suez, pretendia-se saber se o consumo de NAS a longo prazo tinha alguma influência na redução de tolerância à glucose no sangue. Foram realizadas várias experiências, usando modelos animais e humanos. Na primeira experiência, foi acrescentado à água dos ratinhos um NAS (tendo sido usado sacarina, sucralose e aspartame). Como grupo de controlo, usaram água com glucose ou sacarose. Ao fim de 12 semanas, os ratinhos a consumir qualquer um dos tipos de NAS desenvolveram intolerância à glucose, enquanto que o grupo de controlo não desenvolveu intolerância. Dos três tipos de NAS usados, a sacarina foi a que provocou um efeito mais acentuado.

Com o intuito de comprovar se estes resultados tinham alguma relação com o microbioma, usaram-se antibióticos (ciprofloxacina, metronidazol e vancomicina) para reduzir a flora intestinal dos ratinhos. Manteve-se o mesmo tipo de dieta em ambos os grupos. Confirmou-se que o uso de antibióticos reduziu a intolerância à glucose, pelo que esta parece ser mediada pelas alterações do microbioma intestinal (Suez et al., 2014).

Posteriormente, realizaram um transplante fecal dos ratinhos em estudo para ratinhos germ-free. Comprovou-se que estes últimos ficavam com o fenótipo da intolerância à glucose pelo que está relacionado com o microbioma (Suez et al., 2014).

Além disso, decidiram realizar uma experiência em humanos. Usaram sete voluntários não consumidores de NAS, e colocaram-nos numa dieta rica em NAS. Em apenas quatro dias, metade dos indivíduos apresentaram um aumento do índice de glicemia e alterações no microbioma, tal como se tinha observado na experiência anterior. Deste modo, pode-se concluir que o consumo de NAS está relacionado com a obesidade (Suez et al., 2014).

6.4. Atuais terapias

Atualmente, existem terapias farmacológicas, hormonais e cirúrgicas para a obesidade. As terapias farmacológicas demonstraram resultados muito modestos na perda de peso. Além disso, ainda não apresentam relatórios de eficácia e segurança a longo prazo sendo apenas permitidos tratamentos com a duração máxima de dois anos. No entanto, cada vez mais surgem novas moléculas pelo que se podem esperar melhorias neste tipo de terapêutica (Meiliana & Wijaya, 2009).

Em relação às terapias hormonais, estas têm a vantagem de ser muito específicas pois apenas atuam no centro de controlo de apetite do cérebro. Apesar de, na grande maioria dos casos, requererem que o tratamento se prolongue para o resto da vida, têm menos probabilidades de efeitos adversos devido à sua especificidade (Smith, K. L., Parkinson, J. R., & Bloom, 2006).

Zhang et al consideram o tratamento da obesidade um desafio. Para pessoas com obesidade mórbida, a única solução eficaz na redução substancial do peso é serem submetidos a uma cirurgia bariátrica. A mais comum é o bypass gástrico em Y de Roux, que consiste na criação de uma bolsa no fundo gástrico do estômago, permitindo a ligação entre este e o jejuno (Zhang et al., 2009) e que traz benefícios significativos para a saúde.

A cirurgia de bypass gástrico permite uma redução acentuada do peso corporal, do risco de diabetes tipo 2 e da mortalidade cardiovascular. Pode ocorrer uma melhoria da diabetes antes da redução de peso, sugerindo que o bypass gástrico tem efeitos antidiabéticos diretos (Karlsson et al., 2013).

Em dois estudos realizados (Furet et al., 2010; Zhang et al., 2009), observaram-se mudanças na composição do microbioma fecal. Deste modo, sugere-se que o microbioma intestinal pode contribuir para a melhoria do fenótipo metabólico associado ao bypass gástrico.

A investigação de Furet et al analisou os perfis microbianos presentes nas fezes de indivíduos com obesidade mórbida antes e depois da realização da cirurgia. Pretendia-se examinar a associação entre o microbioma intestinal e os marcadores da composição corporal, metabólica e inflamatória. Foi feita a distinção entre indivíduos obesos diabéticos e indivíduos obesos não diabéticos. Antes da cirurgia, as fezes apresentavam uma diminuição da quantidade de *Bacteroides* e *Prevotella* em ambos os casos. Notou-se ainda uma diminuição da bactéria *F. prausnitzii* no caso concreto dos obesos diabéticos. Após a realização da cirurgia, houve uma melhoria dos fenótipos

inflamatórios metabólicos e clínicos. A massa corporal sofreu uma redução de 22%, no final dos seis meses em que os doentes foram seguidos (Furet et al., 2010). O microbioma também sofreu alterações. Verificou-se um aumento das bactérias do género *Bacteroides* e *Prevotella*, da *Escherichia coli* e verificou-se, contudo, uma diminuição das *Bifidobacterium* e *Lactobacillus/Leuconostoc/Pediococcus* em todos os indivíduos do estudo. Além destas alterações, os indivíduos diabéticos apresentam ainda um aumento da *F. prausnitzii*.

Estas alterações no microbioma originam uma diminuição de massa gorda e dos níveis de leptina no plasma (Nelson & Cox, 2004). A leptina é uma hormona endógena produzida pelo tecido adiposo, em proporção direta à massa gorda. Atua no hipotálamo com o intuito de reduzir o apetite, ou seja, é a hormona responsável por informar o organismo que as reservas de gordura são suficientes. Deste modo, promove a redução do consumo calórico e o aumento do gasto de energia. Também estimula a produção de neuropéptidos, entre eles, o neuropéptido orexigénio Y (NPY) e o anorexigénio α -MSH. No entanto, a leptina encontra-se aumentada em indivíduos obesos, o que aparenta ser contraditório. No entanto, estes valores de leptina encontram-se elevados em indivíduos obesos como resultado da tentativa fracassada de ultrapassar a resistência à leptina (Nelson & Cox, 2004). É considerada importante pelo seu potencial uso terapêutico em várias doenças metabólicas associadas à obesidade, incluindo a diabetes tipo 2 (Furet et al., 2010).

A bactéria benéfica *F. prausnitzii* que estava diminuída em indivíduos obesos e diabéticos voltou a aumentar para o seu nível normal após a cirurgia. Esta bactéria está relacionada com a melhoria dos marcadores da inflamação, o que permite relacioná-la com a melhoria da diabetes tipo 2 após a cirurgia, pela sua capacidade de modular a inflamação sistémica. Esta bactéria, *F. prausnitzii*, foi dos primeiros microrganismos da classe Clostridia (clostridial cluster) a ser identificado. Este, quando presente em baixas concentrações, está associado a uma inflamação intestinal e até mesmo à obesidade (Velasquez-Manoff, 2015).

Resumindo, a alteração do microbioma intestinal parece ter um contributo positivo nos efeitos do bypass gástrico (Karlsson et al., 2013).

6.5. Novas terapias: transplante fecal

As doenças estão muitas vezes relacionadas com alterações no microbioma intestinal o que levanta a hipótese de ser possível restaurar a comunidade microbiana a partir de um transplante do microbioma fecal de um indivíduo saudável (Bakken, 2009). Esta hipótese é baseada no pressuposto que a obesidade e vários fenótipos de doenças são muitas vezes induzidas por alterações na genética do hospedeiro que, por sua vez, causam disbiose no intestino. No fundo, o transplante de um indivíduo saudável para um doente, pode restabelecer o equilíbrio de microrganismos no intestino (Clemente et al., 2012).

O transplante bacteriano fecal (FMT), também denominado bacterioterapia fecal, consiste em transplantar comunidades bacterianas fecais de um indivíduo saudável para um indivíduo com o microbioma alterado (doença) (Khoruts, Dicksved, Jansson, & Sadowsky, 2010).

O FMT é o processo de introdução gradual e lenta de uma suspensão líquida com microrganismos de um dador para o trato intestinal de um indivíduo com o microbioma intestinal alterado (Khoruts et al., 2010). A amostra fecal é recolhida no dia do procedimento, sendo processada num laboratório de análises clínicas para se transformar numa suspensão líquida. Pode ser instilada no trato gastrointestinal, através de um cateter nasoduodenal, ou no cólon, através do colonoscópio ou enema de retenção (Bakken, 2009).

Embora esta técnica esteja numa fase inicial, o FMT tem sido usado maioritariamente para o tratamento por infeção de *Clostridium difficile* associada a antibióticos (CDI), embora esteja a ser investigada para outras doenças associadas a disbiose intestinal. Entre elas, o síndrome do cólon irritável e a obesidade (Borody, Brandt, & Paramsothy, 2014; Khoruts et al., 2010).

Há vários estudos que comprovam o sucesso do FMT em doentes com infeção de *Clostridium difficile* associada a antibióticos. Em 2010, Khoruts et al., após a realização de um transplante fecal de um dador saudável, conseguiam modificar a composição do microbioma de um paciente de modo a obter a cura. A alteração foi comprovada por RFLP (polimorfismo dos fragmentos de restrição) e 16S rRNA para comparar as comunidades bacterianas antes e após o transplante. Chegaram à conclusão de que, depois de 14 dias, o microbioma do paciente ficou muito idêntico ao do dador saudável (Khoruts et al., 2010). Também Aas et al reportaram o sucesso deste tipo de terapia em 16 pacientes com infeção CDI, que foram seguidos durante 90 dias após o

transplante. Destes, apenas um não ficou curado tendo tido uma recorrência (Aas, Gessert, & Bakken, 2003).

Num artigo de revisão, Gough et al fazem referência a 27 estudos num total de 317 pacientes com infeção CDI, em que a doença foi resolvida com transplante fecal em 92% dos casos (Gough, Shaikh, & Manges, 2011).

Mais recentemente, Petrof et al foram os primeiros a substituir uma amostra fecal por uma mistura sintética de microrganismos. As misturas sintéticas têm a vantagem de poderem ser controladas e testadas para verificar a presença de vírus e patógenos e serem altamente reprodutíveis. No seu estudo, recorreu a uma mistura de 33 bactérias diferentes, entre elas *F. prausnitzii*, *E.coli*, *Bifidobacterium longum* e *Bacteroides ovatus*. Ao administrá-la a dois pacientes com CDI durante uma colonoscopia, chegou-se a uma cura (Petrof et al., 2013).

No caso das doenças metabólicas, um estudo demonstrou que o FMT com uma amostra fecal com bactérias produtoras de butirato melhorou a sensibilidade à insulina em indivíduos diabéticos obesos, pelo que pode ser uma das terapêuticas a instituir neste tipo de indivíduos (Vrieze et al., 2012).

Até à data, não se encontram estudos que comprovem a eficácia dos transplantes fecais como terapêutica da obesidade. No entanto, vários autores referem essa possibilidade.

Conclusão

Este projeto deu-me a possibilidade de estudar um tema bastante atual e que assume cada vez maior importância num mundo em constante evolução e mudança. O estudo e conhecimento do microbioma intestinal evoluiu muito nos últimos anos.

Desde o início do Projeto do Microbioma Humano, em 2007, até hoje, fizeram-se descobertas a nível da genética e da microbiologia que permitiram caracterizar o microbioma. Também os avanços tecnológicos, nomeadamente a nível da genética e metagenómica, ajudaram a compreender a imensidão do que é o microbioma. Sabemos já que os genes dos microrganismos superam largamente os do organismo humano.

O microbioma intestinal assume um papel fundamental na vida de um ser humano, desde o seu nascimento até ao fim da vida. Está intimamente relacionado com a alimentação e com o estilo de vida que adotamos. É particularmente curioso o facto de estar nas nossas mãos a alteração do microbioma. Cada um tem a possibilidade de contribuir para a mudança, através de uma dieta alimentar correta e aquisição de hábitos saudáveis, praticados de forma regular. Deste modo, cada vez mais as pessoas se preocupam com questões relacionadas com a sua saúde e mostram maior preocupação em praticar exercício físico. Hoje, temos uma grande preocupação com o envelhecimento ativo, principalmente porque nos tornámos demasiado sedentários e a esperança de vida aumentou. Viver mais tempo exige pensar na qualidade de vida e em potenciar o bem estar geral.

Com este trabalho, pretendi aprofundar a relação do microbioma intestinal com a obesidade. Já se fez a relação entre o microbioma e a dieta e, consequentemente, a influência de ambos na obesidade. Há vários mecanismos já conhecidos que associam o microbioma intestinal a esta doença metabólica, que afeta cada vez mais pessoas a nível mundial.

Cada vez mais surgem opções terapêuticas para a obesidade, recorrendo aos conhecimentos farmacológicos e hormonais. As cirurgias bariátricas, muito usadas como tratamento na obesidade mórbida, também estão relacionadas com alterações no microbioma intestinal. A perda de peso, relacionada com a cirurgia, tem efeitos a nível do intestino no sentido de o reequilibrar.

Outra das possíveis terapêuticas, o transplante fecal, é usado para tratamento de doenças relacionadas com a disbiose intestinal e revelou já grande sucesso em infeções provocadas por *Clostridium difficile* associado a antibióticos. Apesar de ainda não haver

estudos em humanos sobre a sua eficácia no tratamento da obesidade, pensa-se que esta técnica possa vir a ser uma opção terapêutica.

Apesar dos grandes avanços nos últimos anos, muito ainda está por descobrir e espera-se que futuras investigações tragam novas terapêuticas.

Bibliografia

- Aas, J., Gessert, C. E., & Bakken, J. S. (2003). Recurrent *Clostridium difficile* colitis: case series involving 18 patients treated with donor stool administered via a nasogastric tube. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 36(5), 580–585. doi:10.1086/367657
- Aggarwal, J., Swami, G., & Kumar, M. (2013). Probiotics and their effects on metabolic diseases: An update. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(1), 173–177. doi:10.7860/JCDR/2012/5004.2701
- Ahnen, D. (1995). Protein Digestion and Assimilation. In *Textbook of gastroenterology* (pp. 456–466). Philadelphia: J. B. Lippincott Company.
- Allison, D., Kaprio, J., Korkeila, M., Koskenvuo, M., NEale, M., & Hayakawa, K. (1996). The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart. *International Journal of Obesity*, (20), 501–506.
- Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V, Koh, G. Y., Nagy, A., ... Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(44), 15718–15723. doi:10.1073/pnas.0407076101
- Bäckhed, F., Manchester, J. K., Semenkovich, C. F., & Gordon, J. I. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(3), 979–984. doi:10.1073/pnas.0605374104
- Bakken, J. S. (2009). Anaerobe Fecal bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe*, 15(6), 1–5. doi:10.1016/j.anaerobe.2009.09.007
- Barz, M. Le, Anhê, F. F., Varin, T. V, Desjardins, Y., Levy, E., Roy, D., & Urdaci, M. C. (2015). Probiotics as Complementary Treatment for Metabolic Disorders, 291–303.
- Beamish, L. a., Osornio-Vargas, A. R., & Wine, E. (2011). Air pollution: An environmental factor contributing to intestinal disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, 5(4), 279–286. doi:10.1016/j.crohns.2011.02.017
- Benjamin, J. L., Hedin, C. R. H., Koutsoumpas, A., Ng, S. C., McCarthy, N. E., Prescott, N. J., ... Whelan, K. (2012). Smokers with active Crohn's disease have a clinically relevant dysbiosis of the gastrointestinal microbiota. *Inflammatory Bowel Diseases*, 18(6), 1092–1100. doi:10.1002/ibd.21864
- Bergström, A., Skov, T. H., Bahl, M. I., Roager, H. M., Christensen, L. B., Ejlerskov, K. T., ... Licht, T. R. (2014). Establishment of intestinal microbiota during early life: A longitudinal, explorative study of a large cohort of Danish infants.

- Applied and Environmental Microbiology*, 80(9), 2889–2900. doi:10.1128/AEM.00342---14
- Bindels, L. B., Neyrinck, A. M., Salazar, N., Taminiau, B., Druart, C., Muccioli, G. G., ... Delzenne, N. M. (2015). Non Digestible Oligosaccharides Modulate the Gut Microbiota to Control the Development of Leukemia and Associated Cachexia in Mice, 1–16. doi:10.1371/journal.pone.0131009
- Blaut, M., & Clavel, T. (2007). Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. *The Journal of Nutrition*, 137(3 Suppl 2), 751S–5S. doi:137/3/751S [pii]
- Borody, T. J., Brandt, L. J., & Paramsothy, S. (2014). Therapeutic faecal microbiota transplantation: current status and future developments. *Current Opinion in Gastroenterology*, 30(1), 97–105. doi:10.1097/MOG.0000000000000027
- Brinkworth, G. D., Noakes, M., Clifton, P. M., & Bird, A. R. (2009). Comparative effects of very low---carbohydrate, high---fat and high---carbohydrate, low---fat weight--loss diets on bowel habit and faecal short---chain fatty acids and bacterial populations. *The British Journal of Nutrition*, 101(10), 1493–1502. doi:10.1017/S0007114508094658
- Brown, A. J., Goldsworthy, S. M., Barnes, A. a, Eilert, M. M., Tcheang, L., Daniels, D., ... Dowell, S. J. (2003). The Orphan G protein---coupled receptors GPR41 and GPR43 are activated by propionate and other short chain carboxylic acids. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(13), 11312–9. doi:10.1074/jbc.M211609200
- Byrne, C. S., Chambers, E. S., Morrison, D. J., & Frost, G. (2015). The role of short chain fatty acids in appetite regulation and energy homeostasis. *International Journal of Obesity*, (August 2014), 1–8. doi:10.1038/ijo.2015.84
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., ... Alessi, M. C. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56(July), 1761–1772. doi:10.2337/db06---1491.P.D.C.
- Cani, P. D., Bibiloni, R., Knauf, C., & Neyrinck, A. M. (2008). Changes in Gut Microbiota Control Metabolic, 57(June). doi:10.2337/db07---1403.Additional
- Cani, P. D., Dewever, C., & Delzenne, N. M. (2004). Inulin---type fructans modulate gastrointestinal peptides involved in appetite regulation (glucagon---like peptide--1 and ghrelin) in rats. *British Journal of Nutrition*, 92(03), 521. doi:10.1079/BJN20041225
- Cani, P. D., Neyrinck, a M., Maton, N., & Delzenne, N. M. (2005). Oligofructose promotes satiety in rats fed a high---fat diet: involvement of glucagon---like Peptide--1. *Obes Res*, 13(6), 1000–1007. doi:10.1038/oby.2005.117

- Claesson, M. J., Cusack, S., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., de Weerd, H., Flannery, E., ... O'Toole, P. W. (2011). Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108 Suppl , 4586–4591. doi:10.1073/pnas.1000097107
- Clement, K., & Langin, D. (2007). Regulation of inflammation---related genes in human adipose tissue. *Journal of Internal Medicine*, 262(4), 422–430. doi:10.1111/j.1365---2796.2007.01851.x
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: An integrative view. *Cell*, 148(6), 1258–1270. doi:10.1016/j.cell.2012.01.035
- Conlon, M., & Bird, A. (2015). The Impact of Diet and Lifestyle on Gut Microbiota and Human Health. *Nutrients*, 7(1), 17–44. doi:10.3390/nu7010017
- Davis, C., Mudd, J., & Hawkins, M. (2014). Neuroprotective effects of leptin in the context of obesity and metabolic disorders. *Neurobiology of Disease*. doi:10.1016/j.nbd.2014.04.012
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., ... Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(33), 14691–14696. doi:10.1073/pnas.1005963107
- Delmée, E., Cani, P. D., Gual, G., Knauf, C., Burcelin, R., Maton, N., & Delzenne, N. M. (2006). Relation between colonic proglucagon expression and metabolic response to oligofructose in high fat diet---fed mice. *Life Sciences*, 79(10), 1007–1013. doi:10.1016/j.lfs.2006.05.013
- Dethlefsen, L., Huse, S. M., Huber, J. a., Relman, D. a., & Sogin, M. L. (2008). The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Genetics*, 4(11). doi:10.1371/journal.pbio.0060280
- DiBaise, J. K., Zhang, H., Crowell, M. D., Krajmalnik---Brown, R., Decker, G. A., & Rittmann, B. E. (2008). Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clinic Proceedings. Mayo Clinic*, 83(4), 460–469. doi:10.4065/83.4.460
- Duda---Chodak, a. (2012). The inhibitory effect of polyphenols on human gut microbiota. *Journal of Physiology and Pharmacology : An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 63(5), 497–503. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23211303>
- Duncan, S. H., Holtrop, G., Lopley, G. E., Calder, a G., Stewart, C. S., & Flint, H. J. (2004). Contribution of acetate to butyrate formation by human faecal

- bacteria. *The British Journal of Nutrition*, 91(6), 915–923. doi:10.1079/BJN20041150
- Faith, J. J., Guruge, J. L., Charbonneau, M., Subramanian, S., Seedorf, H., Goodman, A. L., ... Gordon, J. I. (2013). The long-term stability of the human gut microbiota. *Science (New York, N.Y.)*, 341(6141), 1237439. doi:10.1126/science.1237439
- Fava, F., Gitau, R., Griffin, B. a., Tuohy, K. M., Gibson, G., & Lovegrove, J. (2012). The type and quantity of dietary fat and carbohydrate alter faecal microbiome and short-chain fatty acid excretion in a metabolic syndrome “at-risk” population syndrome. *International Journal of Obesity*, 37(2), 216–223. doi:10.1038/ijo.2012.33
- Feehley, T., & Nagler, C. R. (2014). The weighty costs of non-caloric sweeteners. *Nature*, 514(7521), 176–177. doi:10.1038/nature13752
- Flint, H. J., Scott, K. P., Duncan, S. H., Louis, P., & Forano, E. (2012). Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes*, 3(4), 289–306.
- Fox, S. (1999). The digestive system. In *Human physiology* (6th editio., pp. 564–602). New York: McGraw-Hill Companies.
- Furet, J., Kong, L., Tap, J., Poitou, C., Basdevant, A., Bouillot, J., ... Cle, K. (2010). Differential Adaptation of Human Gut Microbiota to bariatric surgery-induced weight loss. *Diabetes*, 59(December), 3049–3057. doi:10.2337/db10-0253.
- Gardner, C., Wylie-Rosett, J., Gidding, S. S., Steffen, L. M., Johnson, R. K., Reader, D., & Lichtenstein, a. H. (2012). Nonnutritive Sweeteners: Current Use and Health Perspectives: A Scientific Statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 35(8), 1798–1808. doi:10.2337/dc12-9002
- Gough, E., Shaikh, H., & Manges, A. R. (2011). Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent clostridium difficile infection. *Clinical Infectious Diseases*, 53(10), 994–1002. doi:10.1093/cid/cir632
- Graf, D., Cagno, R. Di, Fa, F., Flint, H. J., Nyman, M., Saarela, M., & Watzl, B. (2015). Contribution of diet to the composition of the human gut microbiota °. *Microbial Ecology*, 1, 1–11.
- Hartstra, A. V, Bouter, K. E. C., Bäckhed, F., & Nieuwdorp, M. (2015). Insights Into the Role of the Microbiome in Obesity and Type 2 Diabetes, 38(1), 159–165.
- Hildebrandt, M. a., Hoffmann, C., Sherrill-Mix, S. a., Keilbaugh, S. a., Hamady, M., Chen, Y. Y., ... Wu, G. D. (2009). High-Fat Diet Determines the Composition of the Murine Gut Microbiome Independently of Obesity. *Gastroenterology*, 137(5), 1716–1724.e2. doi:10.1053/j.gastro.2009.08.042

- Hinde, K., & Lewis, Z. T. (2015). Mother's Little Helpers. *Science*, 348(6242), 1427–1428.
- Hooper, L. V, Midtvedt, T., & Gordon, J. I. (2002). How host---microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annual Review of Nutrition*, 22, 283–307. doi:10.1146/annurev.nutr.22.011602.092259
- Huse, S. M., Dethlefsen, L., Huber, J. a., Welch, D. M., Relman, D. a., & Sogin, M. L. (2008). Exploring microbial diversity and taxonomy using SSU rRNA hypervariable tag sequencing. *PLoS Genetics*, 4(11). doi:10.1371/journal.pgen.1000255
- Huttenhower, C., Gevers, D., Knight, R., Abubucker, S., Badger, J. H., Chinwalla, A. T., ... White, O. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), 207–214. doi:10.1038/nature11234
- Huxley, R. R., Ansary---Moghaddam, A., Clifton, P., Czernichow, S., Parr, C. L., & Woodward, M. (2009). The impact of dietary and lifestyle risk factors on risk of colorectal cancer: A quantitative overview of the epidemiological evidence. *International Journal of Cancer*, 125(1), 171–180. doi:10.1002/ijc.24343
- Jeffery, I. B., Claesson, M. J., O'Toole, P. W., & Shanahan, F. (2012). Categorization of the gut microbiota: enterotypes or gradients? *Nature Reviews Microbiology*, 10(9), 591–592. doi:10.1038/nrmicro2859
- Jeffery, I. B., & O'Toole, P. W. (2013). Diet---microbiota interactions and their implications for healthy living. *Nutrients*, 5(1), 234–252. doi:10.3390/nu5010234
- Karlsson, F., Tremaroli, V., Nielsen, J., & Bäckhed, F. (2013). Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes*, 62(10), 3341–3349. doi:10.2337/db13---0844
- Kelly, T., Yang, W., Chen, C---S., Reynolds, K., & He, J. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International Journal of Obesity (2005)*, 32(9), 1431–1437. doi:10.1038/ijo.2008.102
- Khoruts, A. M., Dicksved, J., Jansson, J. K., & Sadowsky, M. J. (2010). Changes in the composition of the human fecal microbiome following bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*---associated diarrhea. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 44(5), 354–360.
- Knight, R. (2015). Why Microbiome Treatments Could Pay O ff Soon. *Nature*, 518, S5.
- Koropatkin, N. M., Cameron, E. a., & Martens, E. C. (2012). How glycan metabolism shapes the human gut microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, 10(5), 323–335. doi:10.1038/nrmicro2746

- Larsen, N., Vogensen, F. K., Van Den Berg, F. W. J., Nielsen, D. S., Andreasen, A. S., Pedersen, B. K., ... Jakobsen, M. (2010). Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS ONE*, 5(2). doi:10.1371/journal.pone.0009085
- Le Chatelier, E., Nielsen, T., Qin, J., Prifti, E., Hildebrand, F., Falony, G., ... Pedersen, O. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*, 500(7464), 541–6. doi:10.1038/nature12506
- Le Poul, E., Loison, C., Struyf, S., Springael, J.-Y., Lannoy, V., Decobecq, M.-E., ... Detheux, M. (2003). Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(28), 25481–25489. doi:10.1074/jbc.M301403200
- Ley, R. E. (2010). Obesity and the human microbiome. *Current Opinion in Gastroenterology*, 26(1), 5–11. doi:10.1097/MOG.0b013e328333d751
- Ley, R. E., Bäckhed, F., Turnbaugh, P., Lozupone, C. a, Knight, R. D., & Gordon, J. I. (2005). Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(31), 11070–11075. doi:10.1073/pnas.0504978102
- Lutgendorff, F., Akkermans, L. M. a, & Söderholm, J. D. (2008). The role of microbiota and probiotics in stress-induced gastro-intestinal damage. *Current Molecular Medicine*, 8(4), 282–298. doi:10.2174/156652408784533779
- Mahan, K., & Escott-Strump, S. (2004). *Nutrition & Diet Theraphy* (11th editi.). Philadelphia: Saunders.
- Mateos, J. M. B. (2007). Alimentos Funcionales. In *Alimentos funcionales* (pp. 76–102). Dirección General de Salud Pública y Alimentación.
- Matijašić, B. B., Obermajer, T., Lipoglavšek, L., Grabnar, I., Avguštin, G., & Rogelj, I. (2014). Association of dietary type with fecal microbiota in vegetarians and omnivores in Slovenia. *European Journal of Nutrition*, 53(4), 1051–1064. doi:10.1007/s00394-013-0607-6
- Matsuo, K., Akamatsu, T., & Katsuyama, T. (1997). Histochemistry of the surface mucous gel layer of the human colon. *Technology*, 40(6), 782–789.
- Meiliana, A., & Wijaya, A. (2009). Gut Hormones and Energy Balance, The Future for Obesity Therapy? *The Indonesian Biomedical Journal*, 1(3), 33. doi:10.18585/inabj.v1i3.99
- Metchnikoff, E. (1907). *The prolongation of life*. New York: Arna Press.

- Mueller, C., & Macpherson, A. J. (2006). Layers of mutualism with commensal bacteria protect us from intestinal inflammation. *Gut*, 55(2), 276–284. doi:10.1136/gut.2004.054098
- Murphy, E. F., Cotter, P. D., Healy, S., Marques, T. M., O’Sullivan, O., Fouhy, F., ... Shanahan, F. (2010). Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: relationship to diet, obesity and time in mouse models. *Gut*, 59(12), 1635–1642. doi:10.1136/gut.2010.215665
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2004). *Lehninger principles of biochemistry*. *Lehninger principles of biochemistry* (4th ed.). New York: Worth publishers.
- Orrhage, K., & Nord, C. E. (1999). Factors controlling the bacterial colonization of the intestine in breastfed infants. *Acta Paediatrica. Supplementum*, 88(430), 47–57. doi:10.1111/j.1651---2227.1999.tb01300.x
- Petrof, E. O., Gloor, G. B., Vanner, S. J., Weese, S. J., Carter, D., Daigneault, M. C., ... Allen---Vercoe, E. (2013). Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: “RePOOPulating” the gut. *Microbiome*, 1(1), 3. doi:10.1186/2049---2618---1---3
- Pryde, S. E., Duncan, S. H., Hold, G. L., Stewart, C. S., & Flint, H. J. (2002). The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiology Letters*, 217(2), 133–139. doi:10.1016/S0378---1097(02)01106---0
- Roberfroid, M. (1993). Dietary fiber, inulin, and oligofructose: A review comparing their physiological effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(2), 103–148.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch --- A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1–17. doi:10.1111/j.1541---4337.2006.tb00076.x
- Sanchez, M., Darimont, C., Drapeau, V., Emady---azar, S., Lepage, M., Rezzonico, E., ... Tremblay, A. (2014). Effect of *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC1 . 3724 supplementation on weight loss and maintenance in obese men and women *British Journal of Nutrition*, 1507–1519. doi:10.1017/S0007114513003875
- Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., & Rémésy, C. (2002). Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 56(6), 276–282. doi:10.1016/S0753---3322(02)00205---6
- Schrezenmeir, J., & Vrese, M. De. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition 1–3, 73.
- Scott, K., Duncan, S., Louis, P., & Flint, H. (2011). Nutritional influences on the gut microbiota and the consequences for gastrointestinal health. *Biochemical Society Transactions*, 39(4), 1073.

- Shimizu, M., & Son, D. O. (2007). Food-derived peptides and intestinal functions. *Current Pharmaceutical Design*, 13(9), 885–895. doi:10.2174/138161207780414287
- Siezen, R. J., & Kleerebezem, M. (2011). The human gut microbiome: Are we our enterotypes? *Microbial Biotechnology*, 4(5), 550–553. doi:10.1111/j.1751---7915.2011.00290.x
- Simões, C. (2014). Effect of Diet on the Human Large Intestinal Microbiota. *Nutricias*, 23, 21–23.
- Smith, K. L., Parkinson, J. R., & Bloom, S. R. (2006). Gut hormones: the future for obesity therapy? *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 13(1), 62–64.
- Sommer, M. O. a, Dantas, G., & Church, G. M. (2009). Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora. *Science (New York, N.Y.)*, 325(5944), 1128–1131. doi:10.1126/science.1176950
- Specter, M. (2012). Germs are us. Bacteria make us sick. Do they also keep us alive? *New Yorker*; 22, 32–9.
- Stephen, A. ., & Cummings, J. . (1980). Mechanism of action of dietary fiber in the human colon. *Nature*, 284, 283–284.
- Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman---schapira, G., Thaïss, C. a, Maza, O., ... Shapiro, H. (2014). Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*, 514(7521), 181–186. doi:10.1038/nature13793
- Taylor, P., Champagne, C. P., Gardner, N. J., & Roy, D. (2007). Challenges in the Addition of Probiotic Cultures to Foods Challenges in the Addition of Probiotic Cultures to Foods, (February 2013), 37–41. doi:10.1080/10408690590900144
- The NIH HMP Working Group. (2009). The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*, 19(12), 2317–2323. doi:10.1101/gr.096651.109
- Tringe, S. G., & Hugenholtz, P. (2008). A renaissance for the pioneering 16S rRNA gene. *Current Opinion in Microbiology*, 11(5), 442–446. doi:10.1016/j.mib.2008.09.011
- Tsukumo, D. M., Carvalho, B. M., Carvalho---Filho, M. A., & Saad, M. J. A. (2014). Translational research into gut microbiota: new horizons in obesity treatment: updated 2014. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia E Metabologia*, 53(2), 139–144. doi:S0004---27302009000200004 [pii]

- Turnbaugh, P. J., Hamady, M., Yatsunenko, T., Cantarel, B. L., Ley, R. E., Sogin, M. L., ... Gordon, J. I. (2009). A core gut microbiom in obese and lean twins. *Nature*, 457(32089), 480–484. doi:10.1038/nature07540.A
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. a, Magrini, V., Mardis, E. R., & Gordon, J. I. (2006). An obesity---associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444(7122), 1027–1031. doi:10.1038/nature05414
- Velasquez---Manoff, M. (2015). The Peace keepers Amid the trillions of microbes that live in the intestines, scientists have found a few species that seem to play a key role in keeping us healthy.
- Voreades, N., Kozil, A., & Weir, T. L. (2014). Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Frontiers in Microbiology*, 5(September), 1–9. doi:10.3389/fmicb.2014.00494
- Vrieze, A., Van Nood, E., Holleman, F., Salojärvi, J., Kootte, R. S., Bartelsman, J. F. W. M., ... Nieuwdorp, M. (2012). Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome. *Gastroenterology*, 143(4), 913–916.e7. doi:10.1053/j.gastro.2012.06.031
- Walker, A. W., Duncan, S. H., Mcwilliam, E. C., Child, M. W., Flint, H. J., & Leitch, E. C. M. (2005). pH and Peptide Supply Can Radically Alter Bacterial Populations and Short---Chain Fatty Acid Ratios within Microbial Communities from the Human Colon pH and Peptide Supply Can Radically Alter Bacterial Populations and Short---Chain Fatty Acid Ratios within Mi. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(7), 3692–3700. doi:10.1128/AEM.71.7.3692
- WHO, & FAO. (2001). *Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria*.
- Windey, K., de Preter, V., & Verbeke, K. (2012). Relevance of protein fermentation to gut health. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56(1), 184–196. doi:10.1002/mnfr.201100542
- Wolowczuk, I., Verwaerde, C., Viltart, O., Delanoye, A., Delacre, M., Pot, B., & Grangette, C. (2008). Feeding our immune system: Impact on metabolism. *Clinical and Developmental Immunology*, 2008. doi:10.1155/2008/639803
- Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y.-Y., Keilbaugh, S. a., ... Lewis, J. D. (2011). Linking Long---Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science*, 334(6052), 105–108. doi:10.1126/science.1208344
- Xu, Z., & Knight, R. (2014). Dietary effects on human gut microbiome diversity. *British Journal of Nutrition*, 113(S1), S1–S5. doi:10.1017/S0007114514004127
- Yan, F., & Polk, D. B. (2006). Probiotics as functional food in the treatment of diarrhea. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 9(6), 717–721.

- Young, G. P., Hu, Y., Le Leu, R. K., & Nyskohus, L. (2005). Dietary fibre and colorectal cancer: a model for environment-----gene interactions. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(6), 571–584. doi:10.1002/mnfr.200500026
- Zhang, H., DiBaise, J. K., Zuccolo, A., Kudrna, D., Braidotti, M., Yu, Y., ... Krajmalnik---Brown, R. (2009). Human gut microbiota in obesity and after gastric bypass. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(7), 2365–2370. doi:10.1073/pnas.0812600106